



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DAS
RELAÇÕES PARASITO-HOSPEDEIRO**

TAYNARA CRISTINA GOMES

**SITUAÇÃO ATUAL DE MÃES CRONICAMENTE INFECTADAS
PELO *Trypanosoma cruzi* NO ESTADO DE GOIÁS E
TRIAGEM SOROLÓGICA PARA INFECÇÃO CONGENITA EM
RECÉM-NASCIDOS PELO TESTE DO PEZINHO NA REGIÃO
METROPOLITANA DE GOIÂNIA**

**Goiânia
2016**

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

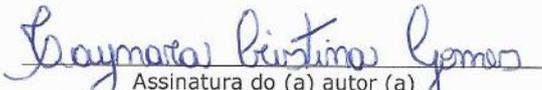
Nome completo do autor: TAYNARA CRISTINA GOMES

Título do trabalho: SITUAÇÃO ATUAL DE MÃES CRONICAMENTE INFECTADAS PELO *Trypanosoma cruzi* NO ESTADO DE GOIÁS E TRIAGEM SOROLÓGICA PARA INFECÇÃO CONGÊNITA EM RECÉM-NASCIDOS PELO TESTE DO PEZINHO NA REGIÃO METROPOLITANA DE GOIÂNIA

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do (a) autor (a)

Data: 06 / 09 / 2016

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

TAYNARA CRISTINA GOMES

**SITUAÇÃO ATUAL DE MÃES CRONICAMENTE INFECTADAS
PELO *Trypanosoma cruzi* NO ESTADO DE GOIÁS E
TRIAGEM SOROLÓGICA PARA INFECÇÃO CONGENITA EM
RECÉM-NASCIDOS PELO TESTE DO PEZINHO NA REGIÃO
METROPOLITANA DE GOIÂNIA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia das Relações Parasito-Hospedeiro da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Biologia das Relações Parasito-Hospedeiro.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Ana Maria de Castro

**Goiânia
2016**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Gomes, Taynara Cristina
SITUAÇÃO ATUAL DE MÃES CRONICAMENTE INFECTADAS
PELO *Trypanosoma cruzi* NO ESTADO DE GOIÁS E TRIAGEM
SOROLÓGICA PARA INFECÇÃO CONGÊNITA EM RECÉM-NASCIDOS
PELO TESTE DO PEZINHO NA REGIÃO METROPOLITANA DE
GOIÂNIA [manuscrito] / Taynara Cristina Gomes. - 2016.
xc, 90 f.

Orientador: Profa. Dra. Ana Maria de Castro.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto
de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Programa de Pós
Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro, Goiânia, 2016.
Bibliografia. Anexos.
Inclui siglas, mapas, fotografias, abreviaturas, símbolos, gráfico,
tabelas, algoritmos, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Triagem sorológica. 2. *Trypanosoma cruzi*. 3. Teste do Pezinho.
4. Infecção congênita. 5. Doença de Chagas. I. de Castro, Ana Maria,
orient. II. Título.

CDU 576.8

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno (a): Taynara Cristina Gomes

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Ana Maria de Castro

Membros:

1. Prof.^a. Dr.^a. Ana Maria de Castro

2. Prof.^a. Dr.^a. Joanna D'arc Aparecida Herzog Soares

3. Dr.^a. Daniela de Sousa Mendes Moreira Alves

Data: 28/07/2016



ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE TAYNARA CRISTINA GOMES - Aos vinte e oito dias do mês de julho do ano de 2016 (28/07/2016), às 14:00 horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profs. Drs. ANA MARIA DE CASTRO, JOANNA D'ARC APARECIDA HERZOG SOARES e DANIELLA DE SOUSA MENDES MOREIRA ALVES, para, sob a presidência da primeira, e em sessão pública realizada no INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: **“SITUAÇÃO ATUAL DE MÃES CRONICAMENTE INFECTADAS PELO *Trypanosoma cruzi* NA REGIÃO METROPOLITANA DE GOIÂNIA, GOIÁS E TRIAGEM SOROLÓGICA PARA INFECÇÃO CONGÊNITA EM RECÉM-NASCIDOS PELO TESTE DO PEZINHO”**, em nível de **MESTRADO**, de autoria de **TAYNARA CRISTINA GOMES**, discente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DA RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela Orientadora, Profa. Dra. ANA MARIA DE CASTRO, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou a Candidata sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra a seguir, foi concedida ao autor da dissertação que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu o Candidato, tendo-se adotado o sistema de diálogo seqüencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 1271/2014 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro a Banca, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando a candidata **Aprovada ou Reprovada:**

Banca Examinadora

Dra. Ana Maria de Castro

Dra. Joanna D'arc Aparecida Herzog Soares

Dra. Daniella de Sousa Mendes Moreira Alves

Aprovada / Reprovada

Aprovada
aprovada
Aprovada

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata habilitada, (**Habilitada ou não Habilitada**), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de **MESTRE EM BIOLOGIA DA RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO**, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às 16 h 30 min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de dissertação e para constar eu, **KARINY VIEIRA SOARES E SILVA**, secretária do Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro, lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim em duas vias de igual teor.

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação:

Situação atual de mães cronicamente infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* no estado de Goiás e triagem sorológica para infecção congênita em recém-nascidos pelo teste do pezinho na região metropolitana de Goiânia.

Dra. Ana Maria de Castro (IPTSP/UFG)

Dra. Joanna D'arc Aparecida Herzog Soares (IPTSP/UFG)

Dra. Daniella de Sousa Mendes Moreira Alves (IPTSP/UFG)

Secretário da Pós-Graduação:

Assinatura

Ana Maria de Castro
Joanna D'arc Aparecida Herzog Soares
Daniella de Sousa Mendes Moreira Alves
Kariny Vieira Soares e Silva

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas conquistas que me foram permitidas ao longo de minha vida, pela paciência e sabedoria necessária para transformar todas as dificuldades em possibilidades.

A minha mãe Sônia Regina Gomes, a minha avó Albertina Pereira Gomes e ao meu avô Adauto Danilo Gomes (*in memoriam*) por terem me ensinado a conduzir a vida sempre com dignidade e a não desistir de meus objetivos.

Ao meu namorado Lucas Prado Barreto por todo carinho, amor, companheirismo, paciência, palavras de incentivos e todos os ensinamentos.

A minha orientadora Ana Maria de Castro pela oportunidade, pelos seus ensinamentos que me fizeram crescer bastante, pela dedicação no desenvolvimento deste trabalho, pelo carinho, paciência e pelas palavras de incentivo.

Aos colaboradores e amigos da pesquisa Heloísa Ribeiro Storchilo, Hânstter Hállison Alves Rezende, Jéssica Yonara de Souza e Jaqueline Ataíde Silva Lima.

A colaboração de Gisele Folador da Fonseca por toda disponibilidade e atenção de sempre.

A direção e funcionários da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE – Goiânia), Hospital das Clínicas (HC- UFG), Hospital e Maternidade Dona Iris (HMDI) e Cais Nova Era – Aparecida de Goiânia (CNE).

Aos pais e às crianças que participaram da pesquisa.

As agências financiadoras Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG).

Ao sistema Cota UFG por ter financiado a minha bolsa de estudos durante os dois anos de Curso de Mestrado.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	vi
FIGURAS, TABELAS E ANEXOS	viii
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	x
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Prevalência e mortalidade da doença de Chagas	1
1.2 <i>Trypanosoma cruzi</i>	4
1.2.1 Ciclo biológico de <i>Trypanosoma cruzi</i>	8
1.3 Manifestações Clínicas da Doença de Chagas	10
1.4 Formas de transmissão	11
1.4.1 A transmissão vetorial	12
1.4.2 Transmissão oral	13
1.4.3 Transmissão por transplante e doação de órgãos	13
1.4.5 Transmissão congênita	14
1.4.5.1 Fisiopatologia da transmissão congênita	16
1.5 Diagnóstico laboratorial	18
1.5.1 Métodos parasitológicos	18
1.5.2 Métodos sorológicos	19
1.6 Tratamento da infecção por <i>Trypanosoma cruzi</i>	20
1.7 Profilaxia e programas de controle da Doença de Chagas	21
1.7.1 Teste da Mamãe	23
1.7.2 Teste do Pezinho	24
2 JUSTIFICATIVA	25
3 OBJETIVOS	27
3.1 Objetivos específicos	27
4 FLUXOGRAMA	28
4.1 Delineamento Experimental do estudo retrospectivo	28
4.2 Delineamento Experimental do estudo prospectivo	29
5 MÉTODOS	30
5.1 Estudo retrospectivo	30
5.2 Estudo prospectivo	31
5.2.1 Seleção dos pacientes	31
5.2.2 Tamanho da amostra	31
5.2.3 Coleta de amostras biológicas	32

5.3	Imunofluorescência Indireta - IFI	34
5.4	Ensaio Imunoenzimático - ELISA	35
5.5	Validação da sorologia em papel filtro	35
5.5	Análise dos dados	36
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
6.1	Estudo Retrospectivo	37
6.1.1	Estudo soroepidemiológico dos dados	37
6.1.2	Estudo sóciodemográfico dos dados	40
6.1.2.1	Estudo de dados laboratoriais	42
6.2	Estudo Prospectivo	43
6.2.1	Triagem sorológica em papel filtro e análise da sorologia em papel filtro e comparação com a sorologia convencional em sangue periférico	43
6.2.2	Validação da sorologia em papel filtro	44
6.2.3	Comparação dos resultados sorológicos obtidos do sangue periférico das crianças soropositivas com suas respectivas mães	45
6.2.4	Análises de dados dos questionários	48
7	CONCLUSÕES	52
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
	REFERÊNCIAS	54
	ANEXOS	67

FIGURAS, TABELAS E ANEXOS

FIGURA 1: Distribuição global de casos de doença de Chagas com base em estimativas oficiais.....	3
FIGURA 2: Formas amastigota de <i>Trypanosoma cruzi</i>	6
FIGURA 3: Formas epimastigotas de <i>Trypanosoma cruzi</i>	7
FIGURA 4: Formas tripomastigotas de <i>Trypanosoma Cruzi</i>	8
FIGURA 5: Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i>	9
FIGURA 6: Fluxograma de diagnóstico em casos suspeitos de transmissão vertical de doença de Chagas.....	22
FIGURA 7: Foto ilustrativa da realização do Teste do pezinho. Coleta de sangue da lateral da região plantar do recém-nascido em papel filtro.....	32
FIGURA 8: Envelope de identificação do papel filtro usado na pesquisa de triagem sorológica para <i>T. cruzi</i>	33
FIGURA 9: Número de casos de grávidas detectadas com a doença de Chagas de acordo com o número total de atendimentos no Teste da Mamãe nos anos de 2013 a 2015	38
FIGURA 10: Prevalência de grávidas com doença de Chagas no Teste da Mamãe com o decorrer do anos	38
FIGURA 11: Distribuição por microrregiões do estado de Goiás dos casos de doença de Chagas em grávidas detectadas pelo Teste da Mamãe no período de 2013 a 2015	41
TABELA 1: Distribuição da transmissão congênita da doença de Chagas em países endêmicos e não endêmicos.....	15
TABELA 2: Distribuição da transmissão congênita da doença de Chagas no Brasil.....	15
TABELA 3: Tabela de contingência 2x2.....	35
TABELA 4: Estratificação das idades de grávidas com doença de Chagas atendidas no Teste da Mamãe de acordo com cada ano.....	39
TABELA 5: Comparação e concordância dos resultados sorológicos	

para doença de Chagas de amostras de sangue coletadas em papel filtro e sangue periférico de recém-nascidos pelos testes de Imunofluorescência Indireta e Ensaio Imunoenzimático	44
TABELA 6: Avaliação da eficiência das técnica de Imunofluorescência Indireta e Ensaio Imunoenzimático em papel filtro. Tendo como padrão ouro os resultados das sorologias realizada convencionalmente	44
TABELA 7: Comparação e concordância dos resultados sorológicos para doença de Chagas de amostras de sangue periférico coletadas de recém-nascidos e suas respectivas mães pelo teste de Imunofluorescência Indireta e Ensaio Imunoenzimático	46
TABELA 8: Resultados sorológicos para doença de Chagas pelo teste de Imunofluorescência Indireta (IgG) e Ensaio Imunoenzimático(IgG) de amostras de sangue periférico de mães e seus respectivos recém-nascidos.....	46
QUADRO 1: Resultados das análises dos questionários aplicados em mães com doença de Chagas	51
ANEXO 1: Parecer do Comitê de Ética.....	67
ANEXO 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	73
ANEXO 3: Questionário de pacientes.....	75

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

APAE	Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais
BA	Bahia
BZ	Benzonidazol
CNE	Cais Nova Era
D	Erro máximo aceitável na estimativa
DC	Doença de Chagas
DN	Data de Nascimento
DTU's	Unidades Discretas de Tipagem
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
EUA	Estados Unidos da América
GO	Goiás
HAI	Hemaglutinação Indireta
HC	Hospital das Clínicas
HIV	Vírus da Imunodeficiência Adquirida
HTLV	Vírus T-linfotrópico Humano
IC	Intervalo de Confiança
IDP	Instituto de Diagnóstico e Prevenção
IFI	Imunofluorescência Indireta
IFN- γ	Interferon gama
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-17A	Interleucina-17A
IL-6	Interleucina-6
IL-17F	Interleucina-17F
LAERPH	Laboratório de Estudos da Relação Parasito-Hospedeiro
LAFEPE	Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco
LIT	Infusão de Fígado e Triptose, do inglês <i>Liver Infusion Triptose</i>
MCP-1	Proteína Quimiotáctica do Monócito-1
MDI	Maternidade Dona Iris
MIG	Imunoglobulina de membrana

mM	Milimol
N	Número de pessoa a serem investigadas
N Prontuário	Número do Prontuário
NX	Nirfotimox
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	Prevalência esperada
PBS	Salina Tamponada com Fosfato, do inglês <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
PF	Papel Filtro
RN	Recém-nascido
SP	Sangue Periférico
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TN	Triagem Neonatal
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
UFG	Universidade Federal de Goiás
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo
Z	Valor da distribuição normal padrão correspondente ao nível de confiança

RESUMO

A transmissão congênita é considerada uma das principais vias de infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. Estudos retrospectivos da população de gestantes com doença de Chagas (DC) viabilizam o estudo do perfil epidemiológico desta população, contribuindo para conhecimento da prevalência da DC congênita no Brasil. Este estudo avaliou a triagem de infecção por *T. cruzi* em recém-nascidos através do teste do pezinho, visando o diagnóstico precoce da transmissão congênita, como também a análise retrospectiva do perfil soropidemiológico de gestantes infectadas residentes no estado de Goiás em um período de três anos (2013-2015). Para o estudo retrospectivo foi utilizado a base de dados da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) de Goiânia. As análises mostraram que a prevalência de gestantes com DC variou de 0,24% a 0,17%, apresentando um declínio com o decorrer dos anos. Foi também possível evidenciar que a maioria destas gestantes possuía idade ≥ 31 anos, dados que corroboram com o sucesso de programas de controle da transmissão vetorial pelo *Triatoma infestans* e transfusional, melhoria habitacional e melhor eficiência do diagnóstico e da terapêutica. Para o estudo prospectivo foram utilizados os métodos de IFI e ELISA para a sorologia tanto em papel filtro (PF) e soro. Um total de 967 amostras de sangue seco em papel filtro (PF) foi coletado em três unidades de saúde pública em Goiânia e Aparecida de Goiânia, destes, 19 (1,96%), amostras de sangue em PF de RN foram de mães que se autodeclararam com a doença de Chagas. Os resultados mostraram que oito (42%) destas 19 amostras foram reagentes para IgG anti-*T. cruzi* em ambas as técnicas. Foi coletado sangue periférico em sete mães com seus respectivos filhos. As amostras de soro foram analisadas e os resultados confirmaram sorologia IgG anti-*T. cruzi* com índices e titulações semelhantes entre mães e seus respectivos RN, havendo concordância entre os resultados obtidos pela sorologia e o PF, validando esta estratégia na triagem dos RN de mães cronicamente infectadas. Este estudo salienta a importância de um acompanhamento pré-natal e neonatal que identifique precocemente a infecção por *T. cruzi* e também programas de conscientização sobre a DC na população de gestantes.

Palavras-chave: Triagem sorológica, *Trypanosoma cruzi*, Teste do Pezinho, infecção congênita, doença de Chagas.

ABSTRACT

The congenital transmission is considered one of the main pathways of *Trypanosoma cruzi* infection. Retrospective studies of pregnant women population with Chagas disease (CD) allow the study of the epidemiological profile of this population which contributes to the knowledge of the congenital CD prevalence in Brazil. This study evaluated the triage of *T. cruzi* congenital infection in new-borns through the newborn screening aiming the precocious detection of congenital transmission as well as its retrospective analysis of the seroepidemiological profile of the infected pregnant women dwelling in Goiás State in a period of three years (2013-2015). The retrospective study used the data base of the Association of Parents and Friends of Special Needs Individuals (APAE) of Goiânia. The analysis showed that the prevalence of CD infected pregnant women from 0.24% to 0.17%, with a decrease throughout the years. Most of these pregnant women had ≥ 31 years old, which is in accordance with the success of *Triatoma infestans* vectorial transmission control and transfusional control programmes, improvement in dwellings and better efficacy in diagnostics and therapeutics. The prospective study used the IFI and ELISA techniques for serology and filter paper detection. A total of 967 samples of dry blood in filter paper were collected in three public health units in Goiânia and Aparecida de Goiânia. From these samples 19 (1.96%) which were collected in filter paper from newborns were from mothers who declared to have CD. Results showed that 8 (42%) from the 19 samples were reagent to IgG anti-*T. cruzi* in both technique used. Peripheral blood was collected in seven mothers and their respective children. The serum samples were analyzed and the results confirmed IgG positive serology anti-*T. cruzi* with rates and titulation similar between mother and their respective newborn. Also there was accordance between the serology and the filter paper results which validates this strategy in the newborn screening triage from children from chronically infected mother. This study highlights the importance of the prenatal and neonatal care that precociously identifies the *T. cruzi* infection and also of programmes of health education about CD to the pregnant women population.

Key words: serologic triage, *Trypanosoma cruzi*, newborn screening, congenital infection, Chagas disease.

1 INTRODUÇÃO

Em 1909, no município de Lassance (Minas Gerais), o cientista brasileiro Carlos Ribeiro Justiniano Chagas fez a descoberta da Tripanossomíase Americana, também conhecida por doença de Chagas (DC). Neste período, Chagas descobriu seus vetores, caracterizado por insetos hemípteros da família Reduviidae e subfamília Triatominae, conhecidos popularmente como “barbeiros”. Ele identificou também o agente etiológico da doença, o protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* nome atribuído por Chagas em homenagem ao seu orientador Oswaldo Cruz (CHAGAS, 1909; CHAGAS, 1911).

Além disso, Carlos Chagas descreveu também as formas aguda e crônica da doença e os comprometimentos dos sistemas digestivo, cardíaco e neurológico. Tornou-se assim, um grande ícone na história da medicina, por descrever todas as caracterizações de uma doença infecciosa (patógeno, vetor, hospedeiros, manifestações clínicas e epidemiologia). Hoje, essa doença é considerada negligenciada, e possui ampla distribuição pelo mundo (CHAGAS, 1909; CHAGAS, 1911; RASSI, 2009; SILVEIRA, 2011; WHO, 2016).

Carlos Chagas em 1911 fez a primeira descrição de transmissão congênita por *T. cruzi*, já em 1949 Dao evidenciou estes parasitos no sangue de recém-nascidos. Em 1963 Bittencourt fez a descrição da morbimortalidade da doença em recém-nascidos (CHAGAS, 1911; DAO, 1949; BITTENCOURT, 1963). Com o decorrer dos anos, diante da implementação de vários programas de controle da DC, as vias de transmissão vetorial e transfusional da doença foram mantidas sob controle e atualmente a transmissão vertical passa a ser um dos principais mecanismos de transmissão de *T. cruzi* no Brasil (CBDC, 2005; SILVEIRA, 2011; CARLIER et al., 2015).

1.1 Prevalência e mortalidade da doença de Chagas

Cerca de seis a sete milhões de pessoas encontram-se cronicamente infectadas pela DC em todo o mundo e aproximadamente de 12.000 morte são atribuídas à doença anualmente. Os custos globais são estimados em 7,19 milhões de dólares por ano, principalmente em decorrência da perda de produtividade devido

a complicações cardiovasculares. Grande parte dessa população vive em países da América do sul e Europa Central, estando sob condições socioeconômicas subdesenvolvidas onde a disponibilidade de cuidados de saúde é precária ou inexistente. (WHO, 2007; DIAS et al., 2008; WHO, 2012; LEE et al., 2013; WHO a, 2015; WHO, 2016).

A maior proporção de pessoas infectadas concentra-se principalmente em 21 países latino-americanos (Figura 1) sendo consideradas áreas endêmicas de maior incidência de transmissão vetorial (WHO, 2016). A DC tem sido um problema médico e social desde a década de 1940 devido a urbanização da população rural na América Latina, pois houve a introdução de vários riscos, como por exemplo a possibilidade de transmissão de *T. cruzi* por transfusão de sangue (COURA & VIÑAS, 2010; MINUZZI-SOUZA et al., 2016).

O fenômeno da migração humana possibilitou também casos da doença em países não endêmicos, como nos Estados Unidos da América (EUA), Canadá, Europa, Japão e Austrália (Figura 1) (WHO a, 2013; WHO b, 2013). O número estimado de pessoas infectadas com *T. cruzi* nestes países é de 300.000 nos EUA; 5.500 no Canadá; 80.000 na Europa e regiões ocidentais do Pacífico; 3.000 no Japão; 1.500 na Austrália (COURA & VIÑAS, 2010).

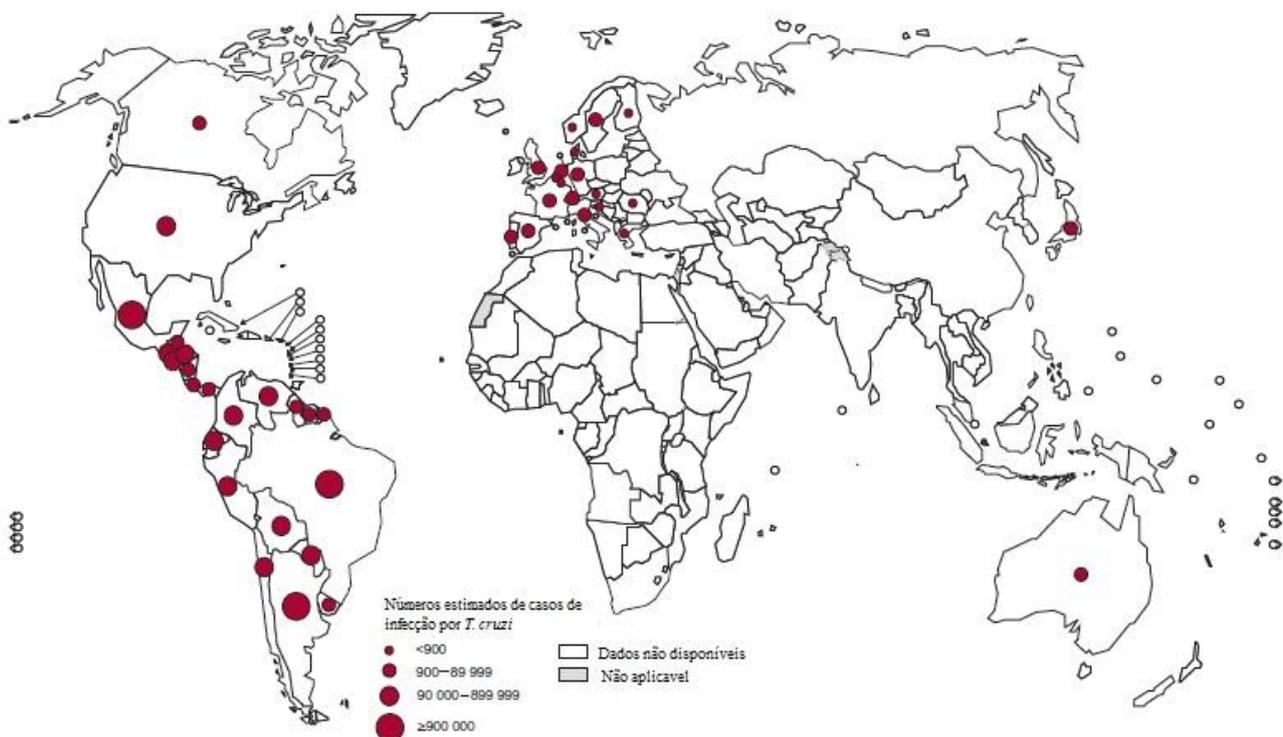


Figura 1 - Distribuição global de casos de doença de Chagas com base em estimativas oficiais. Fonte: WHO a, 2013 - Adaptado.

Um estudo descritivo que avaliou casos de doença de chagas aguda e também a distribuição das espécies de Triatomíneos do Brasil no período de 2000 a 2013 mostrou que a região Norte foi a que apresentou maior incidência da doença, no qual foram evidenciados surtos resultantes principalmente devido à ingestão de frutos contaminados por *T. cruzi*. Este estudo também evidenciou a distribuição de 15 espécies de triatomíneos de importância epidemiológica, que envolve espécies silvestres com altas taxas de infecção através da via vetorial (MS, 2015).

No Brasil, na região da Amazônia Legal (Acre, Amazonas, Amapá, Rondônia, Roraima, Pará, parte do Tocantins, Maranhão e do Mato Grosso) a Secretaria de Vigilância em Saúde pretende realizar a vigilância na detecção precoce de casos agudos e surtos (FIO CRUZ, 2013; PORTAL DA SAÚDE b, 2014).

De acordo com a Fundação Nacional de Saúde do Brasil no período de 1996 a 1999 a região que apresentou o maior número de óbitos pela DC foi à região Sudeste com 11.577 registros. Em segundo lugar ficou a Região Centro-Oeste com 4.573 óbitos. A região Norte apresentou o menor perfil de mortalidade por DC, com 224 registros (FUNASA, 2010).

Em relação à taxa de mortalidade, estudos também realizados no período de 1996 a 1999 mostraram que na região sudeste os estados de Espírito Santo e Rio de Janeiro foram os que apresentavam menores taxas de mortalidade, porém Minas Gerais foi o estado que demonstrou maiores taxas. Enquanto que na região Centro-Oeste, nos estados do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul; e o estado de Goiás foi o que apresentou maiores taxas. Na região Nordeste, o Maranhão foi o estado com as menores taxas, enquanto a Bahia apresentou ter o maior índice de taxa de mortalidade. Na região Sul, o estado de Santa Catarina apresentou as menores taxas, porém o Paraná apresentou as maiores. E por fim, na região Norte, não houve registros de óbitos por doença de Chagas nos Estados Amazonas, Roraima, Amapá, Acre durante todo o período avaliado no estudo, já o estado de Tocantins por sua vez apresentou as maiores taxas de mortalidade em decorrência da DC (FUNASA, 2010).

Um estudo do Ministério da Saúde realizado no Brasil durante o período de 1996 a 2009 avaliando diversas doenças transmissíveis, mostrou que o número de óbitos por DC foi diminuindo com decorrer dos anos, apresentando cerca de 4.916 casos em 2009. O mesmo ocorreu em relação à taxa bruta de mortalidade, apresentando um declínio com o decorrer do tempo (MS, 2011).

1.2 *Trypanosoma cruzi*

A DC possui como agente etiológico o *T. cruzi*, um protozoário flagelado pertencente ao filo Sarcomastigophora, da classe Zoomastigophora, ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae (NEVES & FILIPPIS, 2010). A antropozoonose causada por este agente é de grande importância médica, devido a sua patogenia, formas de transmissão, pela sua dificuldade no tratamento e ações de controle (ANDREOLLO et al., 2009).

Estes parasitos são heteroxenos, havendo uma grande variedade de hospedeiros vertebrados, representados por diferentes animais domésticos e silvestres. Já os hospedeiros invertebrados são representados por numerosas espécies de hemípteros hematófagos da família Reduviidae, conhecidos popularmente como “barbeiros”. O *T. cruzi* pode apresentar diferentes dimensões, morfologias e organização. Essa variação existe de acordo com a fase evolutiva em

que se encontra, com o tipo de hospedeiro (vertebrado ou invertebrado) ou com as condições do meio em que se localiza (SOUZA, 2013).

As formas evolutivas do *T. cruzi* são representadas por: amastigotas que são formas intracelulares e as formas epimastigotas e tripomastigotas, que são formas livres. Suas diferenças são notadas com base na morfologia do parasito (esférica, piriforme, alongada), no posicionamento relativo entre o núcleo e o cinetoplasto (anterior, lateral e posterior) e na posição de saída do flagelo do bolso flagelar (central ou lateral) (BRENER et al., 2000; REY, 2013; SOUZA, 2013).

A forma amastigota é caracterizada por possuir pequenas dimensões e contornos circulares, ovoides ou fusiformes. O corpo é achatado, com pouco citoplasma e núcleo redondo e excêntrico com tamanho relativamente grande. O cinetoplasto se faz bem visível na microscopia óptica, sendo o oposto do flagelo, por estar invaginado ao segmento intracelular, logo não sendo evidenciado em preparações coradas e examinadas. A mobilidade desta forma do parasito é quase nula devido à ausência da parte externa do flagelo (Figura 2). Esta forma evolutiva encontra-se em hospedeiros vertebrados e possui localização intracelular (REY, 2013; SOUZA, 2013).

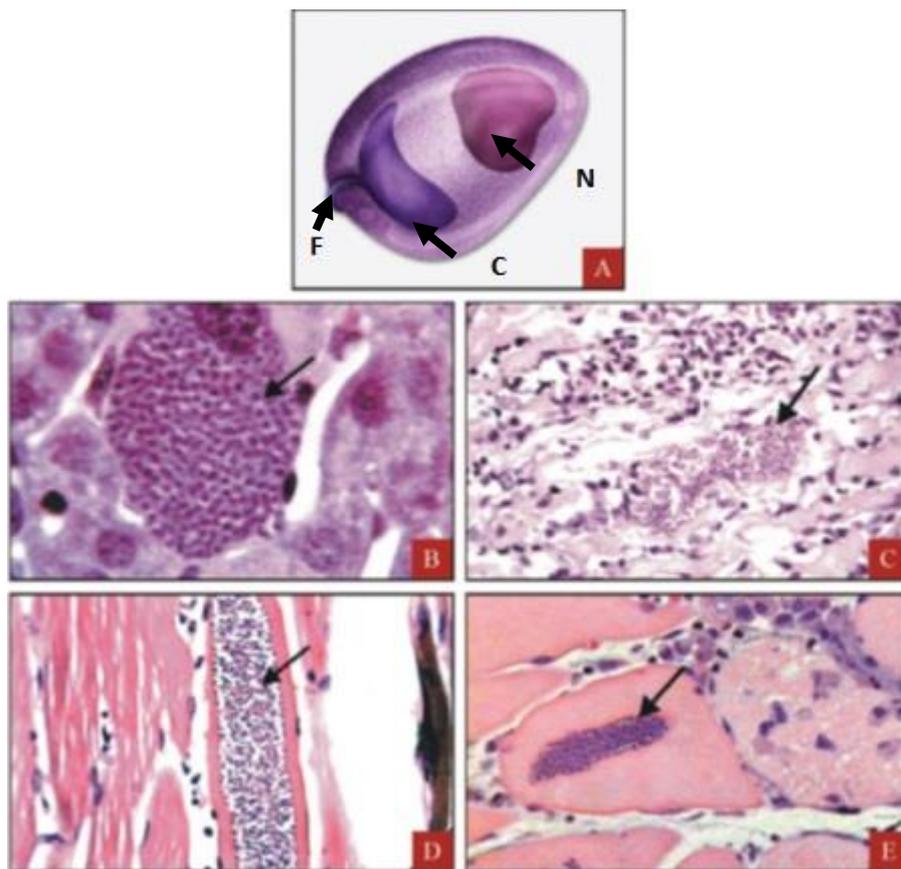


Figura 2 – Formas amastigota de *Trypanosoma cruzi*, em diferentes locais: A) Esquema de uma amastigota com as seguintes estruturas apontadas: F - Flagelo invaginado, C - Cinetoplasto, N – Núcleo; B) Seta indicando ninhos de amastigotas em um macrófago; C) Seta indicando ninhos de amastigotas no miocárdio; D, E) Setas indicando ninhos de amastigotas na musculatura lisa de um megaesôfago. Cortes histológicos corados pela Hematoxilina Eosina. Fonte: JUNQUEIRA et al., 2011 - Adaptado.

Na forma epimastigota o citossomo (corpo celular) possui forma alongada e achatada, o cinetoplasto situa-se próximo ao núcleo e o bolso flagelar abre-se lateralmente. O flagelo emerge afastado da extremidade anterior, porém se mantém colado à membrana do citossomo por uma prega da bainha flagelar denominada “membrana ondulante” porção não funcional que acompanha flagelo. Este se torna livre só depois de ultrapassar o pólo anterior da célula (Figura 3). Os epimastigotas são encontrados em hospedeiros invertebrados e também em culturas (BRENER et al., 2000; SOUSA, 2013; REY, 2013).

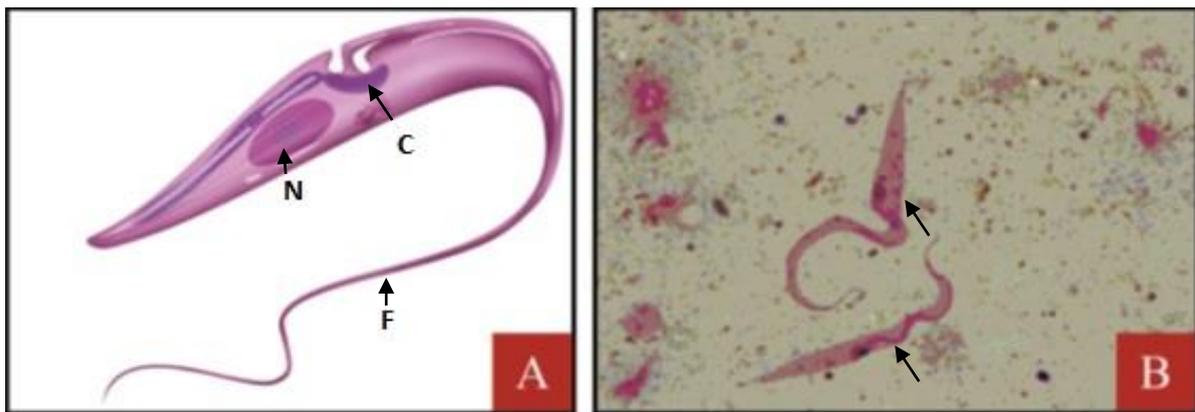


Figura 3 – Formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*. A) esquema de uma epimastigota com as seguintes estruturas apontadas: F – Flagelo livre, C – Cinetoplasto, N – Núcleo; B) Setas indicando epimastigota em esfregaço de fezes de triatomíneo corada com Hematoxilina Eosina. Fonte: JUNQUEIRA et al., 2011 - Adaptado.

As formas tripomastigotas são classificadas em metacíclicas e sanguíneas. Os tripomastigotas metacíclicos são encontrados em hospedeiros invertebrados (no final do intestino posterior do barbeiro) e em meio de cultura. Possuem forma fina, com cinetoplasto grande, redondo e afastado da extremidade posterior, núcleo alongado e de estrutura frouxa, membrana ondulante estreita e curto flagelo livre como demonstrado nas preparações coradas na figura 4 (NEVES & FILIPPIS, 2010; REY, 2013).

Os tripomastigotas sanguíneos são encontrados nos hospedeiros vertebrados, podendo apresentar formas finas ou largas, o citossomo quando fixado, adota em geral a forma de um “C”, outras vezes a de um “S”, com extremidade posterior. A membrana ondulante tem proporção estreita e pouco pregueada, o segmento livre do flagelo representa aproximadamente um terço do comprimento total e o núcleo ocupa uma porção média do corpo celular (Figura 4) (BRENER et al., 2000; NEVES & FILIPPIS, 2010; REY, 2013).



Figura 4 – Formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*. A) Esquema de uma tripomastigota com as seguintes estruturas apontadas: F – Flagelo livre, C – Cinetoplasto, N – Núcleo; B, C) Setas indicam formas largas e delgadas de tripomastigotas de *T. cruzi* coradas com Hematoxilina Eosina, respectivamente. Fonte: JUNQUEIRA et al., 2011 - Adaptado.

Com base em estudos que envolvem a diversidade do genoma de *T. cruzi* e multiplicidade dos seus genótipos e fenótipos, foi possível classificar este parasito em seis grupos independentes ou também chamados de Unidades Discretas de Tipagem (DTUs): TcI, TcII, TcIII, TcV e TcVI (ZINGALES et al., 2009; ZINGALES et al., 2012). Essa grande biodiversidade do parasito colabora para que haja diferenças nas manifestações clínicas e na morbidade da doença, no tropismo por diferentes tecidos, em mudanças na sensibilidade a quimioterápicos e na adequação a diferentes espécies do vetor (DIAS, 2007; ZINGALES et al., 2009; ZINGALES et al., 2012).

1.2.1 Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*

Como relatado anteriormente, o *T. cruzi* em suas diversas formas evolutivas pode ser encontrado intracelularmente, ou em forma livre no sangue circulante dos hospedeiros vertebrados. Os triatomíneos, ao realizarem o repasto sanguíneo em mamíferos podem ser infectados com formas tripomastigotas sanguícolas. Na luz intestinal ocorre-se o início de um ciclo de multiplicação e logo no intestino médio do inseto, as tripomastigotas diferenciam-se em formas epimastigotas, e ao final do tubo digestivo, uma porção destas formas pode se diferenciar em tripomastigotas metacíclicas, formas infectantes para o hospedeiro vertebrado. Estas formas são eliminadas para o meio externo após o repasto sanguíneo, juntamente com as fezes e urina, podendo-se então encontrar alguma “porta de entrada” (mucosas e/ou

algum ferimento) no hospedeiro, permitindo a entrada deste protozoário, originando-se assim um novo ciclo de infecção (SOUZA et al., 2003; DIAS, 2007).

Quando as formas tripomastigotas metacíclicas eliminadas nas fezes do triatomíneo conseguem se adentrar em células do sistema mononuclear fagocitário estas diferenciam-se em amastigotas, que se multiplicam no citoplasma por divisão binária simples. Esta interiorização na célula pelo *T. cruzi* é realizada através de fagocitose mediada por receptores na membrana plasmática da célula hospedeira. Após várias gerações, estas amastigotas diferenciam-se em tripomastigotas sanguícolas, que após lisarem a célula do hospedeiro são liberadas no interstício, podendo invadir células vizinhas, ou então se disseminar na corrente sanguínea e linfática podendo infectar células de vários tecidos, como por exemplo, os músculos cardíaco, esquelético e liso ou até mesmo células do sistema nervoso, disseminando-se por todo o organismo (Figura 5) (DIAS, 2007; SILBER et al., 2009; REY, 2013).

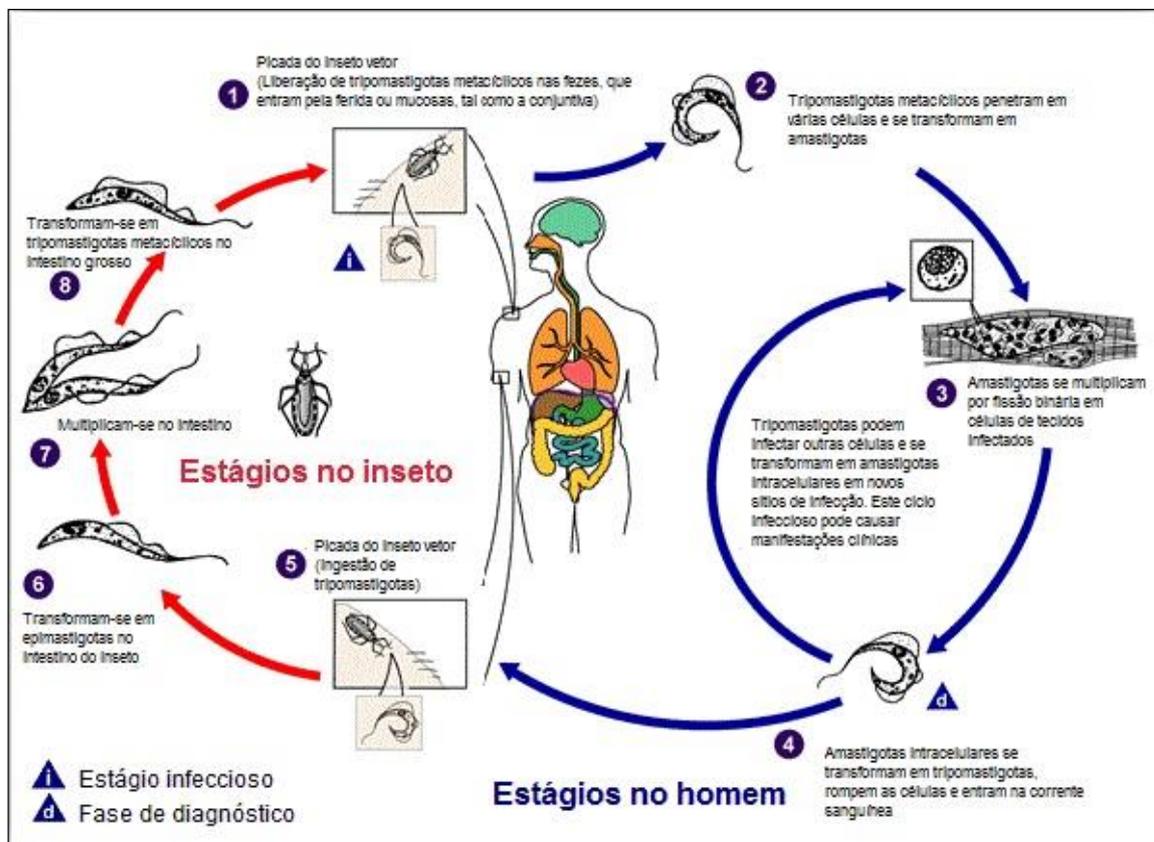


Figura 5 – Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*. Fonte: CDC, 2015 - Adaptado.

1.3 Manifestações Clínicas da Doença de Chagas

Esta doença no homem se manifesta em duas fases: aguda e crônica, podendo desenvolver patogenias distintas. A fase aguda é geralmente silenciosa, passando-se despercebida na maioria das vezes. Porém pode apresentar sintomas inespecíficos como febre, poliadenia, hepatomegalia, esplenomegalia, insuficiência cardíaca e até perturbações neurológicas (GUHI et al., 2005; REY, 2013).

Na fase aguda também pode ocorrer manifestações locais, como o chagoma de inoculação, que ocorre quando a penetração do *T. cruzi* é cutânea, gerando uma lesão semelhante a um “furúnculo” que não chega à supuração, seguida de regressão lenta acompanhada de descamação. Se a penetração do parasito ocorrer pela conjuntiva, o Sinal de Romana pode se desenvolver. Este sinal caracteriza-se por um sinal oftalmo ganglionar complexo havendo edema bipapebral e unilateral, podendo ser acompanhado de edema facial e conjuntivite. Estes sintomas geralmente desaparecem entre quatro e oito semanas (GUHI et al., 2005; SOUSA, 2013).

A taxa de mortalidade na fase aguda é representada por cerca de 10%, essas mortes ocorrem principalmente por miocardites, meningoencefalites, ou outras complicações, como broncopneumonia. (GUHI et al., 2005; REY, 2013; OMS, 2014).

A fase latente ou indeterminada é caracterizada por um período de latência que se inicia a partir de oito a dez semanas após a fase aguda, podendo durar meses ou anos, ou até mesmo por toda a vida do indivíduo infectado. Geralmente nesta fase ocorre redução da parasitemia circulante devido a ação da resposta humoral. Porém ninhos de amastigotas são formados em diferentes tecidos, principalmente os musculares, que estimula resposta imune das próprias células afetadas, podendo desenvolver a formação de um processo inflamatório, podendo causar fibrose no tecido comprometido, criando lesões similares às encontradas na fase crônica da doença (REY, 2013, SOUZA, 2013; OMS, 2014).

A fase crônica pode ser caracterizada por distúrbios em evolução clínica e funcional do coração e ou trato digestivo, resultando em consequências de gravidade variável que resultou cerca de 4.916 casos de óbitos no Brasil em 2009. As manifestações mais comuns da forma cardíaca são aumento do coração (cardiomegalia), com insuficiência cardíaca congestiva, arritmias hipocinéticas e

hipercinéticas, tromboembolismo cerebral ou pulmonar, disfunção autonômica cardíaca e até a morte súbita (RASSI et al., 2009; MS, 2011; JUNQUEIRA, 2012; NUNES et al., 2013).

Na forma digestiva, as manifestações são representadas por megaesôfago e/ou megacólon. Estas perturbações cardíacas e digestivas são aquelas que normalmente caracterizam a DC crônica. A forma cardíaca pode ser responsável pela alta morbidade e mortalidade, dependendo do genótipo do *T. cruzi*, podendo desenvolver um alto risco de deficiência de curto e médio prazo, e mau prognóstico em cerca de 30-40% dos pacientes afetados (PRATA, 2001; WHO, 2007; RASSI et al., 2009; BILOLO et al., 2010; JUNQUEIRA, 2012; NUNES et al., 2013).

No Brasil as manifestações destas formas clínicas podem variar de acordo com cada região. No estado de Goiás predominam as formas digestivas (megaesôfago e megacólon); na Bahia são mais evidentes as formas cardíacas, em Minas Gerais, formas mistas (cardíaca e digestiva); no Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul grande parte da população infectada desenvolve a forma indeterminada. Estas diferenças ocorrem devido às diversas DTU's de *T. cruzi* que se situam com mais frequência em cada em cada região do país (COURA et al., 1983; REZENDE & LUQUETTI, 1994; ZINGALES et al., 2012).

1.4 Formas de transmissão

T. cruzi pode ser transmitido por diferentes modos: pelo vetor (através das fezes dos triatomíneos), oral (através de alimentos contaminados com fezes e/ou urina do triatomíneo infectado, alguns casos pelo aleitamento de mães em fase aguda), ou pelo sangue (através de transfusões de sangue, doações de órgãos, congenitamente; pelo compartilhamento de agulhas entre usuários de drogas injetáveis; por meio de acidentes laboratoriais ou intervenções cirúrgicas com material contaminado) (WHO, 2002; NEVES & FILIPPIS, 2010; SILVEIRA, 2011; REY, 2013).

1.4.1 A transmissão vetorial

A transmissão vetorial possui área endêmica que abrange a extensão do sul dos EUA até o sul da Argentina e Chile (SOSA-ESTANI et al., 2015). O *T. cruzi* infecta mais de 100 espécies de mamíferos domésticos e silvestres e pode ser transmitido por mais de 150 espécies de triatomíneos. Existem 15 gêneros que transmitem a infecção para seres humanos, sendo principalmente representados por *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius*, que geralmente residem nas fendas das parede/tetos de casas de alvenarias, situadas em áreas rurais e periurbanas em toda América Latina (WHO b, 2015).

Na década de 70, o Brasil apresentava extensas áreas de risco vetorial, sendo mais frequente a presença de triatomíneos da espécie e gênero *Triatoma infestans*, considerado o principal vetor domiciliar do país. Em 1975, houve programas de ação de controle químico que contribuíram para que em 2006 o país recebesse a certificação internacional de interrupção da transmissão da doença pelo vetor *T. infestans* (FIOCRUZ, 2013).

De acordo com Silveira (2011), apesar da comprovada interrupção da transmissão pelo principal vetor *T. infestans* no Brasil, ficou-se uma falsa crença de que todo problema relacionado com a doença de Chagas encontrava-se resolvida. Porém, erros de conceitos e mal entendidos sobre a compreensão da erradicação, eliminação e interrupção da transmissão prejudicaram medidas de importância referentes à doença, e a sua vigilância e controle.

No Brasil, cerca de dois a três milhões de pessoas estão cronicamente infectadas com o parasito (MARTINS-MELO et al., 2012). Atualmente As regiões de risco para a transmissão vetorial estão concentradas nas regiões: Alagoas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Paraná, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Sergipe, São Paulo e Tocantins. Estas são áreas em que a Secretaria de Vigilância em Saúde do país visa realizar uma vigilância epidemiológica com a finalidade de detecção vetorial e de prevenção a formação de colônias domiciliares do vetor (FIOCRUZ, 2013; PORTAL DA SAÚDE b, 2014; MINUZZI-SOUZA et al., 2016).

1.4.2 Transmissão oral

As possibilidades de transmissão oral do *T. cruzi* são: 1) ingestão de leite materno da mãe infectada (o parasito pode vir da própria glândula ou contaminar o leite em casos de sangramento mamilar); 2) ingestão de sangue de mamífero infectado; 3) ingestão de carne mal cozida de mamífero infectado, especialmente reservatórios silvestres; 4) ingestão de suspensão de *T. cruzi* em pipetas (acidente de laboratório); 5) ingestão de alimentos ou bebidas contaminados com fezes ou urina de triatomíneos infectados por *T. cruzi*; 6) ingestão de alimentos ou bebidas contaminados com urina ou secreção perianal de marsupiais infectados por *T. cruzi* (CHIEFFI & AMATO NETO, 2000; DIAS & AMATO NETO, 2011; REY, 2013).

No Brasil, através de modelos experimentais a transmissão oral foi sugerida no ano de 1920, porém os primeiros casos foram descritos na década de 60, no estado do Rio Grande do Sul. Nas últimas décadas, foram detectados surtos de transmissão oral no Pará, na Paraíba, em áreas amazônicas, em Santa Catarina, na Bahia e no Ceará (DIAS & SCHOFIELD, 1999; OPS, 2009; DIAS & AMATO NETO, 2011; MS, 2015).

Casos de DC aguda no país estão relacionados com o consumo de suco de açaí contendo vetores infectados por *T. cruzi*, a Amazônia Legal é a região que mais apresentou casos (PASSOS et al., 2010; MS, 2015). No México e na Venezuela, também houve surtos por transmissão oral (CHIEFFI & AMATO NETO, 2000; DIAS & MACEDO, 2005).

1.4.3 Transmissão por transplante e doação de órgãos

No contexto de transmissão por transplante de órgão, a disseminação do parasito em doadores infectados já foi documentada em transplantes de coração, fígado, medula óssea, pâncreas e rim, isto a partir de doadores vivos, com morte cerebral ou eventualmente cadáveres (CHIEFFI & AMATO NETO, 2000; DIAS & MACEDO, 2005).

A conduta básica para o processo de transplante de órgãos tem por princípio o diagnóstico da infecção da DC no doador e no receptor, não sendo recomendável a realização do transplante se o doador estiver infectado e se o receptor estiver suscetível. Porém torna-se uma situação difícil de ser realizada devido a questões

de emergência clínica, de histocompatibilidade e disponibilidade de órgãos. As mesmas recomendações são indicadas se caso o receptor for o infectado, devido ao risco ou consequência de reativação no pós-operatório (CHOCAIR et al., 1981; DIAS & MACÊDO, 2005; DIAS & AMATO NETO, 2011).

No Brasil, com a cobertura integral na seleção de doadores, a transmissão transfusional está sob controle. Porém com a globalização da DC, a transmissão transfusional se tornou problema de saúde pública, pois a triagem para a DC não é realizada em países não endêmicos (VINHAES & DIAS, 2000; SILVEIRA, 2011).

1.4.5 Transmissão congênita

Segundo a OMS, 1.125.000 de mulheres em idade fértil estão infectadas com *T. cruzi* na América Latina, com incidência de infecção congênita de cerca de 8.668 casos anualmente e aproximadamente 50% destes casos ocorrem no México, Argentina e Colômbia (WHO a, 2015).

Em áreas endêmicas a transmissão congênita do *T. cruzi* ocorre em média de 1 a 6%, variando nos diferentes países da América Latina. Como por exemplo, na Argentina a infecção congênita foi detectada em 431 de 7.188 crianças (6%), já no Paraguai em 115 de 2.691 crianças (4,3%) e na Bolívia foram constatadas 292 de 7086 crianças (4,1%) (Tabela 1) (HOWARD et al.; 2014).

Em um inquérito nacional de soroprevalência realizado no Brasil durante 2001 a 2008 foram analisadas 104.954 crianças de até cinco anos de idade e apenas 20 (0,2%) se encontravam infectadas, sendo que 12 delas eram provenientes do estado do Rio Grande do Sul (LUQUETTI et al., 2011).

Uma pesquisa realizada no estado de Goiás durante o período de 2004 a 2012 mostrou que oito (0,9%) de 894 recém-nascidos de mães cronicamente infectadas, ocorreu a transmissão congênita (CARLIER et al., 2015). Em um estudo retrospectivo (1994-2014) na região centro-oeste do Brasil mostrou que de 1.211 indivíduos de mães infectadas ocorreu infecção congênita em 24 (2%) (Tabela 2) (LUQUETTI et al., 2015).

Casos de transmissão congênita também foram descritos em países não endêmicos, esclarecidos pelo fato da migração de mulheres infectadas provenientes

da América Latina (principalmente da Bolívia), sendo descritos casos nos EUA, Espanha, Suíça e Suécia. Como demonstrado na Tabela 1 (HOWARD et al., 2014; CARLIER et al., 2015).

Mulheres infectadas em idade reprodutiva podem transmitir o parasito aos seus descendentes durante gestações sucessivas, tornando esta via de transmissão um importante problema de saúde que pode ser facilmente estendido no tempo e no espaço, devido as migrações (CARLIER & TRUYERS, 2010).

Tabela 1 - Distribuição da transmissão congênita da doença de Chagas em países endêmicos e não endêmicos.

Países endêmicos da América Latina	Amostra (Nº Crianças analisadas)	Casos de transmissão congênita (%)	Referências
Argentina	7.188	431 (6%)	HOWARD et al.; 2014
Paraguai	2.691	115 (4,3%)	HOWARD et al.; 2014
Bolívia	7.086	292 (4,1%)	HOWARD et al.; 2014
Países não endêmicos	Amostra (Nº Crianças analisadas)	Casos de transmissão congênita (%)	Referências
Espanha	743	32 (4,3%)	HOWARD et al.; 2014
Suíça	8	2 (25 %)	HOWARD et al.; 2014

Legenda: %: percentual.

Tabela 2 - Distribuição da transmissão congênita da doença de Chagas no Brasil.

País (Região)	Amostra (Nº Crianças analisadas)	Casos de transmissão congênita (%)	Referências
Brasil	104.954	20 (0,2%)	LUQUETTI et al., 2011
Brasil (GO)	894	8 (0,9 %)	CARLIER et al.; 2015
Brasil (região Centro-Oeste)	1.211	24 (2%)	LUQUETTI et al., 2015

Legenda: %: percentual; GO: Goiás.

Martins-Melo, (2014) e colaboradores mostraram que a transmissão congênita de *T. cruzi* é um problema de grande importância de saúde, porém negligenciada no Brasil, com diferenças significativas nas taxas de prevalência regionais, ressaltando a importância de uma implementação sistemática de vigilância e controle dessa transmissão. Isto é, incluindo exames de rotina que constatarem a infecção em mulheres grávidas e recém-nascidos, detecção precoce dos casos e o tratamento imediato e acompanhamento de crianças com infecção congênita.

1.4.5.1 Fisiopatologia da transmissão congênita

Na transmissão materno-fetal, a capacidade de invasão do parasito sobre as células da placenta está relacionada com a virulência e quantidade deste em mulheres grávidas (principalmente em sangue retroplacentário). Este fato se determina pelas características do genótipo do parasito (CARLIER et al., 2015).

Vários genótipos de *T. cruzi* foram analisados em casos de transmissão congênita. Nos países: Argentina, Bolívia, região sul do Brasil, Chile e Paraguai, o genótipo TcV foi o que mais se destacou, representando cerca de 80-100% dos casos congênitos. Estes estudos também mostraram que os genótipos TcI e TcII foram os menos evidenciados, estando menos envolvido no desenvolvimento da infecção congênita (CORRALES et al., 2009; GARCIA et al., 2014; CARLIER et al., 2015; LUQUETTI et al., 2015).

As mães infectadas com *T. cruzi* podem transmitir o parasita em uma, algumas, todas ou em nenhuma das gestações (BITTENCOURT, 1992). A parasitemia pode elevar-se com a reativação da doença em forma crônica geralmente associada com a imunossupressão, pois a gravidez pode induzir uma depressão transitória da imunidade mediada por células maternas, para prevenir a rejeição do feto. Um aumento nos níveis de IgM específico de *T. cruzi* foi descoberto em mulheres grávidas infectadas cronicamente, dando a sugestão de uma reativação da DC, sendo este anticorpo normalmente encontrado apenas na fase aguda da doença (BRABIN, 1992; PINAZO et al., 2013).

A transmissão congênita destes parasitos pode estar associada com grau de deficiência imunológica materna, logo, uma resposta imune inata inferior com liberação reduzida de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) por leucócitos e

produção reduzida de interferon gama (IFN- γ) pode indicar uma relação com o aumento do nível de parasitemia materna (HERMANN et al., 2004; GARCIA et al., 2008).

As rotas específicas para a transmissão congênita de *T. cruzi* ainda não estão totalmente esclarecidas na literatura. Alguns estudos relatam que os parasitos podem atravessar a placenta através do seio marginal promovendo a invasão do feto (PRATA, 2001; CARLIER & TRUYERS, 2010). Outros estudos relatam que a ingestão de líquido amniótico infectado ou violações da placenta podem ser uma das causas de transmissão congênita, porém são casos que ocorrem com menos frequência (CARLIER & TRUYERS, 2010; CARLIER et al., 2012).

Foi demonstrado que o aumento dos níveis de IL-17A, MCP-1, MIG, IL-6 e IL-17F em crianças infectadas congenitamente por *T. cruzi* podem estar associadas com o desenvolvimento de infecção congênita, podendo ser marcadores imunológicos desse tipo de transmissão (VOLTA et al., 2016).

A maioria dos casos de transmissão congênita de mães em fase crônica geralmente é assintomática e a infecção pode resultar em parto prematuro, baixo peso ao nascer, anemia, hepatoesplenomegalia, natimortos e também podem ser observadas manifestações clínicas da própria doença no momento do nascimento (TORRICO et al., 2006).

A gravidade da doença pode variar relevantemente de acordo com o nível de parasitemia, logo alguns estudos mostram que o aumento destes parasitos na circulação geralmente ocorre durante entre o 2º e 3º trimestre de gestação (BRUTUS et al., 2010; SIRIANO et al. 2011; BUA et al., 2012). A transmissão congênita na mulher com infecção crônica ocorre principalmente quando o nível de parasitemia fica em torno de 10-20 p/mL, ou seja, 10 a 20 vezes mais elevada do que o normalmente é detectado (BRUTOS et al., 2010; BUA et al., 2012; RENDELL et al., 2015).

Alguns estudos mostraram que a proporção de abortos e natimortos em mulheres cronicamente infectadas foram maiores que em mulheres não infectadas com o parasito, mostrando que a infecção por *T. cruzi* poderia ser um fator de risco para a manutenção do feto nestas mães (OLIVEIRA et al., 1966; TERUEL &

NOGUEIR, 1970; SCHENONE et al., 1985). Porém Blanco e colaboradores (2000) descartam essa possível associação.

1.5 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial da DC é definido em dois grupos de métodos, sendo estes constituídos por métodos parasitológicos e sorológicos (SOUSA, 2013).

1.5.1 Métodos parasitológicos

Estes métodos são geralmente utilizados para diagnóstico na fase aguda da doença, justamente quando o parasito tem maior probabilidade de ser encontrado no sangue periférico, elevada parasitemia. Existe uma gama de diferentes métodos a serem utilizados, sendo representados por: análise direta do sangue ao microscópio; método de *Strout* (centrifugação do soro depois da retração do coágulo); microhematócrito; cultivo de parasitos em distintos meios de cultura e inoculação de sangue sob suspeita de infecção em animais experimentais. A PCR convencional e PCR em tempo real também são alternativas que permite detectar o material genético do parasito em pequenas amostras de sangue (VIRREIRA et al., 2005; DIEZ et al., 2008; OTANI et al., 2009; SOUSA, 2013).

Em relação ao diagnóstico da DC congênita, em casos suspeitos de transmissão vertical, é importante certificar-se dos dados sorológicos da mãe. Estando confirmada a infecção materna, o exame parasitológico do recém-nascido deve ser realizado. Se resultar positivo, a criança deverá ser submetida ao tratamento etiológico rapidamente, se for negativo, as mães chagásicas devem retornar com a criança seis a nove meses após o nascimento, com a finalidade de se fazer testes sorológicos para pesquisa de anticorpos anti- *T. cruzi* da classe IgG. Se a sorologia da criança for negativa descarta-se a transmissão vertical (CBDC, 2005).

A pesquisa do parasito deve ser realizada de preferência em sangue de cordão umbilical, devido a sua facilidade de coleta e também por haver menor agressão ao recém-nascido, porém também pode ser realizada em sangue periférico (MORA et al., 2005; PINTO, 2009).

Os métodos convencionais indiretos para a identificação do protozoário (xenodiagnóstico e hemocultura) mostram-se de baixa sensibilidade, ressaltando que um exame negativo que não retira a possibilidade de infecção (CBDC, 2005; SOUZA, 2013). Estes métodos geralmente são caros, o resultado pode ser lento, podendo demorar até 150 dias (MORA et al., 2005).

O método de microhematócrito é um dos métodos mais utilizados, por apresentar facilidade de uso, baixo custo e resultado rápido, apresentando valor preditivo positivo de 100% e valor preditivo negativo de 90%, entretanto um recém-nascido infectado pode apresentar um microhematócrito negativo e depois cursar com sorologia positiva após nove meses de idade (MORA et al., 2005).

1.5.2 Métodos sorológicos

Indicados para pacientes em fase crônica, os métodos sorológicos são usados justamente porque a parasitemia neste período se encontra acentuadamente reduzida em decorrência da resposta imunológica adquirida, tornando os métodos parasitológicos de baixa sensibilidade. Os métodos sorológicos mais utilizados são: Hemoaglutinação Indireta (HAI), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) (CARLIER et al., 2011; SOUSA, 2013).

Mães infectadas terão filhos com anticorpos anti- *T. cruzi* (IgG), tornando-se necessário o acompanhamento dos níveis de IgG entre o 6º e o 9º mês após o nascimento do bebê, período em que espera-se o desaparecimento dos anticorpos maternos de transmissão passiva. Sendo assim, se houver ainda IgG na sorologia deste recém-nascido após este período, a transmissão congênita será confirmada. A demonstração de IgM e IgA anti-*T. cruzi*, anticorpos que não atravessam a barreira placentária, indicam infecção congênita, porém estes anticorpos raramente são detectados nos recém-nascidos (ANTAS et al., 2000; CBDC, 2005; RODRIGEZ et al., 2005).

O teste de Avidéz ultimamente vem sendo bastante utilizado para a detecção de infecções recentes em alguns tipos de doença, como toxoplasmose, citomegalovirose e rubéola (DE ORY & DOMINGO, 1996; ROBERTS et al., 2001; GUIASOLA et al., 2010; FONSECA et al., 2016). Porém ainda não avaliado na detecção do período de infecção por *T. cruzi*. Essa técnica é caracterizada pela

força de ligação existente entre antígeno e anticorpo ou seja, ela avalia a capacidade de ligação dos anticorpos que é diretamente proporcional ao tempo de infecção. Logo, baixos índices de avidéz podem indicar infecção aguda, já na infecção crônica os índices se tornam elevados (LIESENFELD et al., 2001; EMELIA et al., 2014).

O método de HAI é amplamente utilizado pra fins de diagnóstico, triagem e inquéritos soro epidemiológicos. Sendo um método conhecido pela sua praticidade, fácil manipulação e por ser de baixo custo, porém com baixa especificidade, deve ser utilizado sempre associado a outro método (FERREIRA et al., 2001).

Enquanto que a técnica de IFI possui elevada sensibilidade e especificidade, pode ser utilizada tanto na triagem de doadores de sangue como no diagnóstico da infecção aguda e crônica por *T. cruzi*. Este teste é normalmente feito com formas epimastigotas deste protozoário (FERREIRA et al., 2001).

O teste de ELISA é considerado altamente sensível e específico, e atualmente o mais utilizado na rotina laboratorial, principalmente pela sua automatização (CARLI, 2001).

1.6 Tratamento da infecção por *Trypanosoma cruzi*

O tratamento com tripanocida em mulheres grávidas não é indicado devido à falta de provas concretas que permitem dizer se o fármaco utilizado possui efeitos teratogênicos. Porém, existem casos de situações especiais com risco de vida da mãe em fase aguda em que o tratamento foi prescrito durante a gravidez (BISIO et al., 2013; CORRÊA et al., 2014). Avaliação médica com eletrocardiograma deve ser feita regularmente para o acompanhamento da evolução clínica da doença (CARLIER et al., 2011).

O tratamento das crianças geralmente é bem sucedido e não apresenta as reações adversas observadas em adultos se administrado durante o primeiro ano de vida, pode acarretar a cura na maioria destes indivíduos (ALTCHEH et al., 2011; CARLIER et al., 2011). O prognóstico a longo prazo, não tem sido bem estudado, porém um estudo por Moya e colaboradores (2005) relata que crianças tratadas antes da idade de três anos foram curadas ou seja, tiveram negatificação sorológica e aos 13-15 anos de idade, apresentavam boa evolução clínica.

Para casos de infecção congênita por *T. cruzi*, o tratamento deve ser iniciado logo após a confirmação do diagnóstico, fazendo-se o uso do medicamento Benzonidazol (BZ) ou Nifurtimox (NX) (CEVALLOS & HERNÁNDEZ, 2014). Atualmente existe uma formulação pediátrica do BZ, sendo produzida pelo Brasil no Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes (LAFEPE). O BZ de 12,5 mg foi formulado em decorrência das limitações na divisão do comprimido de 100 mg (destinados a pacientes adultos), podendo gerar fragmentos imprecisos, podendo ocasionar insuficiência ou superdosagem do princípio ativo acarretando alterações no efeito farmacológico e consequentemente na eficácia da terapia (CBDC, 2016; SUVISA, 2016).

O BZ pediátrico é destinado a pacientes de até dois anos de idade (20kg), diminuindo a necessidade de fracionamento do comprimido, não recomendado em casos de crianças prematuras com menos de 2,5 Kg de peso corporal. Proporcionando melhor precisão da dose necessária ao paciente. Além de proporcionar melhor precisão da dose necessária à criança, este medicamento em formulação pediátrica também possui fácil desintegração em líquidos, facilitando a administração do medicamento (SUVISA, 2016).

A posologia do BZ pediátrico recomenda a administração de 5 a 10 mg/kg/dia, conforme faixas de peso preconizadas e prescrição médica. Portanto a administração pode ser de um, dois ou três comprimidos de 12,5 mg duas vezes ao dia com intervalos de 12 horas entre cada administração. Este tratamento possui duração de 60 dias (CBDC, 2016; SUVISA, 2016).

É muito importante informar aos pais e familiares sobre a correta administração do fármaco para assegurar a sua melhor eficácia e para evitar a sobredosagem e efeitos colaterais. Bebês tratados devem ser clinicamente e laboratorialmente acompanhados a cada três meses, até um ano após o tratamento. Avaliação de cura é estabelecida quando a sorologia convencional torna-se persistentemente negativa (CARLIER & TORRICO, 2003).

1.7 Profilaxia e programas de controle da Doença de Chagas

As melhores estratégias relativas ao controle da transmissão congênita de *T. cruzi* são divididas em duas categorias, sendo a primeira representada por: controle

das rotas básicas de transmissão primária da infecção em áreas endêmicas (principalmente as rotas vetoriais e transfusional), com o propósito de reduzir a taxa de prevalência de mulheres infectadas. Já a segunda categoria se define por: diagnóstico precoce e correto de casos congênitos, com a finalidade de tratar recém-nascidos infectados, evitando assim a mortalidade relacionada com a doença e morbidade no período neonatal ou após este período (CARLIER & TORRICO, 2003).

O ideal seria começar ainda na gravidez, realizando-se sorologia em gestantes com suspeita clínica ou epidemiológica. Seriam pesquisados os bebês que nascerem de mães chagásicas, fazendo-se o uso de exames parasitológicos, tratando-se imediatamente os que resultarem positivos. Sendo negativos parasitologicamente, é indicado a sorologia convencional aos seis e aos nove meses de vida (quando desaparecem os anticorpos IgG maternos), logo em seguida, prosseguir com o tratamento imediato aos que forem positivos (Figura 6) (CHIEFFI & AMATO, 2000; DLADTCC, 2011; CBDC, 2016).

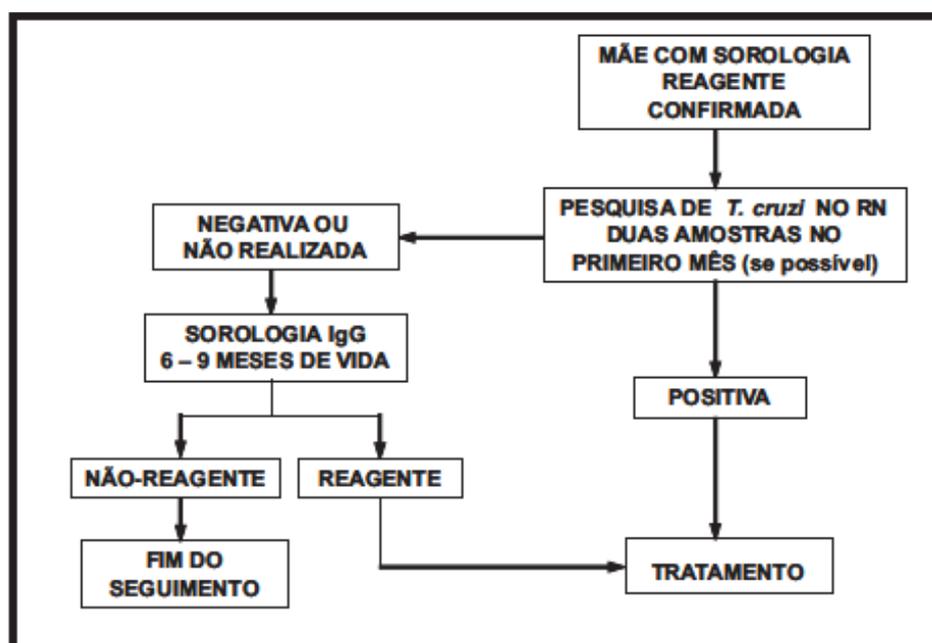


Figura 6 – Fluxograma de diagnóstico em casos suspeitos de transmissão vertical de doença de Chagas. Fonte: CBDC, 2005.

Se não houver a possibilidade de seguir o *screening* universal, então esta estratégia deverá ser aplicada em crianças consideradas de maior risco, como as

prematuros ou com baixo peso ao nascer, ou constando caso de sintomas compatíveis com infecção chagásica (TORRICO et al., 2004).

Em alguns países como Uruguai, Paraguai e partes da Argentina, existe triagem sorológica de gestantes de rotina pré-natal. No Brasil, não há este procedimento como programa nacional, porém associações como a APAE (Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais) o realizam, em Mato Grosso do Sul e Goiás (IPED, 2009; CARLIER et al., 2015).

De acordo com Carlier e colaboradores (2015) a prevenção da infecção congênita é possível, devido a estudos recentes terem mostrado o benefício do tratamento com tripanocida em mulheres não grávidas para promover a prevenção da transmissão congênita para futuros filhos (SOSA-ESTANI et al., 2009; FABBRO et al., 2014).

1.7.1 Teste da Mamãe

O Programa de Proteção à Gestante do Estado de Goiás foi criado no ano de 2003 pela APAE de Goiânia com a finalidade de reduzir a morbimortalidade materna, perinatal e na infância. O Teste da Mamãe, como é chamado, tem por objetivo oferecer as gestantes uma série de exames laboratoriais para detectar precocemente doenças que trazem prejuízo à saúde da mãe ou do bebê (IPED, 2009; CARTILHA, 2015; MM, 2015).

Este procedimento é capaz de diagnosticar nove tipos de doenças sendo estas: DC, citomegalovírus, hepatite B, hepatite C, HTLV, rubéola, HIV, sífilis e toxoplasmose. Para o exame, são coletadas seis gotas de sangue que são armazenadas em papel filtro e depois de secas são enviadas para o Instituto de Diagnóstico e Prevenção (IDP) da APAE de Goiânia (IPED, 2009; CARTILHA, 2015; MM, 2015).

A partir da vigésima oitava semana de gestação existe uma nova solicitação para o retorno destas gestantes à unidade de saúde para a coleta da amostra para a 2ª fase de exames. Os resultados considerados negativos são liberados, resultados positivos ou indeterminados para qualquer uma das doenças pesquisadas são obrigatoriamente repetidos pela mesma técnica e, se confirmados pela repetição, é solicitada uma coleta de sangue periférico pela forma convencional em tubos

preparados. O serviço social do IDP/APAE informa a gestante sobre as razões da nova coleta, que deve ser feita na mesma unidade de saúde em que foi realizado o Teste da Mamãe. Se os resultados forem confirmados, a gestante é encaminhada para uma unidade de referência para melhor análise e resolução do caso (IPED, 2009; APAE, 2015; CARTILHA, 2015; MM, 2015).

1.7.2 Teste do Pezinho

O Programa de Triagem Neonatal (TN) ou também conhecido por Teste do Pezinho se baseia em uma metodologia de rastreamento de doenças na população com idade de 3 a 7 dias e incluem diagnósticos para doença metabólicas, hematológicas, infecciosas e genéticas (MS, 2002).

Essa triagem geralmente é realizada em postos de coleta, que conta com a presença de um responsável em cada unidade, que orienta os pais da criança a respeito da finalidade do teste, realiza a coleta em papel filtro, o armazenamento e entre outras atribuições. A punção para a obtenção do material geralmente é executada em uma das laterais da região plantar do calcanhar, posteriormente esse sangue já seco em PF é encaminhado para um laboratório especializado em TN para possíveis análises (MS, 2002).

Neste contexto, uma estratégia importante em questão da saúde pública seria a realização de uma triagem pós-natal através do programa de TN já existente, pois já se encontra estabelecida uma estrutura laboratorial e ambulatorial montada (CBDC, 2005).

2 JUSTIFICATIVA

Mulheres infectadas por *T. cruzi* podem transmitir o parasito ao seu feto durante a gestação, podendo ocorrer a transmissão tanto na fase aguda ou em fase crônica da doença. Os fatores relacionados à transmissão vertical do *T. cruzi*, até o momento ainda não são bem conhecidos, sendo o genótipo do parasito e o nível de parasitemia o que tem mais sido relacionado ao fato (ZINGALES et al., 2012; GARCIA et al., 2014).

Siriano e colaboradores (2011) demonstraram que a gravidez é fator de risco para o aumento da parasitemia em mulheres infectadas pelo *T. cruzi* na fase crônica. Nesse estudo, durante a gravidez foi possível detectar o parasito em 60,4% das amostras, enquanto 29,4% de positividade foi detectado nas mulheres infectadas não grávidas (grupo controle). Estudo realizado por Brutus e colaboradores (2010), mostrou que de 359 mulheres grávidas acompanhadas na maternidade pública da cidade de Yacuiba (Bolívia), 147 (41%) tiveram resultados sorológicos positivos para a DC, sendo que a prevalência de parasitemia materna foi significativamente maior durante o terceiro trimestre da gravidez, aumentando assim o risco de transmissão congênita nesse período da gestação. Este fato também é relacionado à maior probabilidade do feto ser infectado, devido a capacidade do parasito de atravessar o epitélio corial e parasitar o estroma das vilosidades da placenta e posteriormente podendo-se alcançar a circulação fetal (CARLIER et al., 2015; PEREZ et al., 2015).

Os fetos infectados congenitamente nascem em sua maioria sem sinais clínicos, representando 60 a 90% dos casos. Quando sintomáticos, podem apresentar má nutrição, vômitos, megaesôfago, disfagia, anemia, hepatomegalia, esplenomegalia, meningoencefalite, falência cardíaca, hipóxia perinatal, prematuridade e até a morte. (NISIDA et al., 1999; BLANCO et al., 2000).

É indicado que crianças infectadas entre em tratamento em até seu primeiro ano de vida, pois estudos demonstram que o tratamento administrado neste período garante grande eficácia, proporcionando melhora no prognóstico e principalmente a possibilidade de cura (STREIGER et al., 1995; BLANCO et al., 2000; CBDC, 2005, DLADTCC, 2011).

Estudos mostram que menos de 20% das crianças nascidas com infecção congênita são diagnosticadas precocemente, isto se deve a dificuldade no sistema de saúde, que não consegue realizar um acompanhamento adequado dos recém-nascidos (BASOMBRIO et al., 1999; GURTLER et al, 2003).

A prevalência de transmissão congênita em algumas regiões do Brasil varia de 0,2 a 2%. Sobre o estado de Goiás, há poucos estudos referentes a transmissão congênita e sobre o perfil da gestante cronicamente infectada pelo *T. cruzi*. Estes dados são essenciais para implementação de programas de triagem gestacional e neonatal (RASSI et al., 2004; LUQUETTI et al., 2011; CARLIER et.al., 2015; LUQUETTI et al., 2015)

O Consenso Brasileiro sobre a DC e a I Diretriz latino-americana para o diagnóstico e tratamento da cardiopatia chagásica enfatizam a necessidade de execução de programas de rastreio de rotina para a DC em gestantes e recém-nascidos de risco (CBDC, 2005; DLADTCC, 2011; CBDC 2016).

Alguns países possuem programas de triagem sorológica de rotina pré-natal para a detecção de DC em gestantes, porém o Brasil ainda não realiza este procedimento em âmbito nacional de forma padronizada. Nos estados do Mato Grosso do Sul e Goiás a triagem para DC nas gestantes é realizada pela APAE (CARLIER et al., 2015).

A realização de um estudo retrospectivo da situação atual de mães cronicamente infectadas pelo *T. cruzi* viabiliza o estudo do perfil epidemiológico mais atual desta população, além de contribuir para notificações importantes para o estudo da prevalência da DC congênita no Brasil, conhecer o perfil das grávidas infectadas, dará subsidio para o estudo da inclusão da sorologia para *T. cruzi* no “teste do pezinho”, sendo esta uma estratégia que poderá ser implementada aos programas de atenção às grávidas e seus recém-nascidos, permitindo a triagem precoce de crianças que podem ser infectadas durante seu desenvolvimento fetal.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

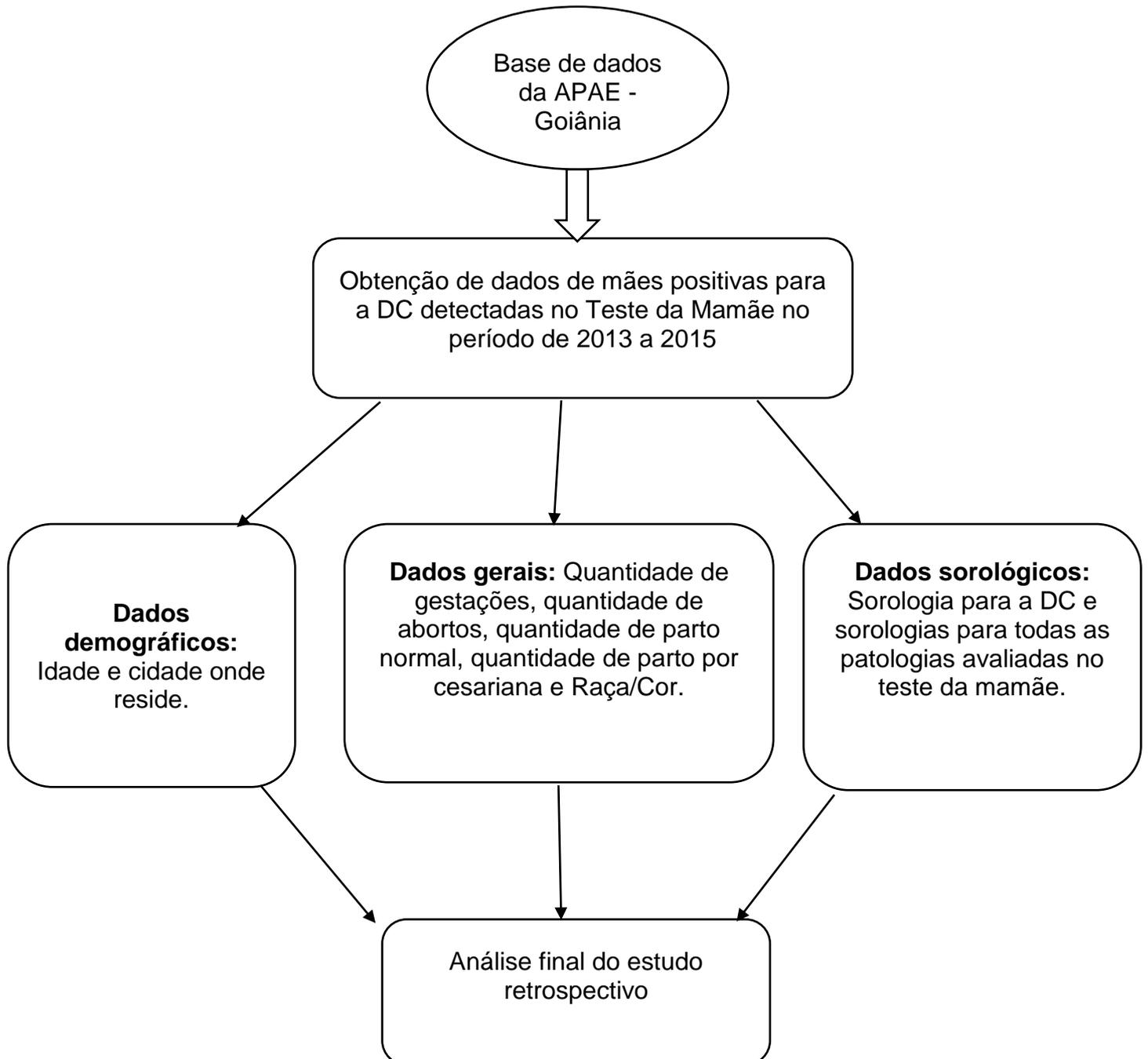
Avaliação retrospectiva do perfil soroepidemiológico de grávidas infectadas por *Trypanosoma cruzi* em todas as microrregiões do estado de Goiás em um período de três anos. Estudo prospectivo através da triagem de recém-nascidos infectados através do teste do pezinho, para o diagnóstico precoce da transmissão congênita na região metropolitana de Goiânia no período de dois anos.

3.1 Objetivos específicos

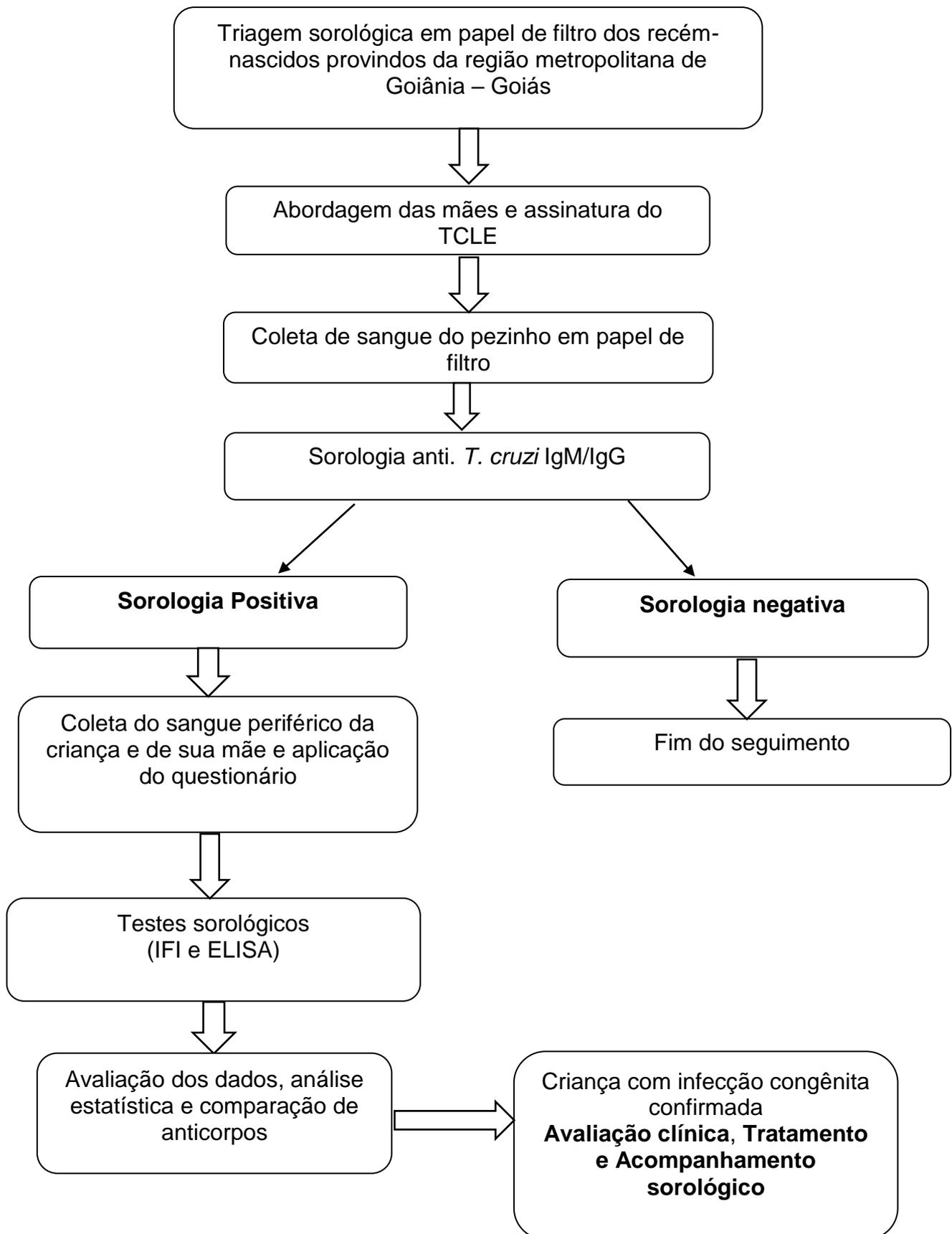
- Analisar o perfil soroepidemiológico e sociodemográfico de mães cronicamente infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* através de um estudo retrospectivo dos anos de 2013 a 2015, pelas informações contidas na base de dados da APAE.
- Analisar a sensibilidade da sorologia em papel filtro (IgG e IgM) para a detecção da doença de Chagas.
- Comparar os resultados obtidos na sorologia realizada no papel filtro com os resultados da sorologia realizada no sangue periférico dos recém-nascidos.
- Realizar testes sorológicos confirmatórios e complementares: IFI (IgG e IgM) e ELISA (IgG) na confirmação dos recém nascidos (RN) com indicação de infecção congênita, utilizado sangue periférico dos RN.
- Avaliar a concentração de anticorpos específicos das classes de IgG e IgM anti-*T. cruzi* nas amostras coletadas da mãe com seu respectivo recém-nascido na indicação da infecção congênita.

4 FLUXOGRAMA

4.1 Delineamento Experimental do estudo retrospectivo



4.2 Delineamento Experimental do estudo prospectivo



5 MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, na Plataforma Brasil. Com número do parecer: 943.441 em 11 de fevereiro de 2015 (Anexo 1).

A pesquisa foi realizada de acordo com a Resolução 466/12 do conselho Nacional de Saúde com vistas aos cumprimentos dos aspectos éticos e legais necessários para a pesquisa envolvendo seres humanos (CNS, 2013). Este estudo foi realizado em duas etapas, um estudo retrospectivo, análise do perfil das gestantes cronicamente infectadas, e análise prospectiva, triagem de RN infectados pelo teste do Pezinho.

5.1 Estudo retrospectivo

Para análise do perfil das gestantes cronicamente infectadas, através da base de dados da APAE. Foi realizado um levantamento das gestantes com sorologia positiva para a DC no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2015 que participaram do Programa de Proteção à Gestante - Teste da Mamãe do Estado de Goiás.

Os seguintes dados foram analisados:

- Dados demográficos: Idade e cidade onde reside.
- Dados gerais: Quantidade de gestações, quantidade de abortos, quantidade de parto normal, quantidade de parto por cesariana e Raça/Cor.
- Dados sorológicos: Sorologia para a DC e sorologias para todas patologias avaliadas no teste da mamãe.

5.2 Estudo prospectivo

5.2.1 Seleção dos pacientes

No estudo prospectivo, a população estudada foi constituída por todos os recém-nascidos (RN) que foram realizar o Teste do Pezinho na Maternidade Dona Íris (MDI), Hospital das Clínicas (HC) da UFG e Cais Nova Era (CNE), situados na região metropolitana de Goiânia.

Os responsáveis pelos RN foram informados da importância da pesquisa para a saúde de seus filhos e o material biológico somente foi coletado após aprovação de seus responsáveis com a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexo 2). Também foram incluídos ao estudo, os RN de gestantes soropositivas identificadas na análise dos dados da APAE. Este estudo foi executado durante o período de 24 meses (agosto de 2014 - 2016).

5.2.2 Tamanho da amostra

Os parâmetros para a estimativa do tamanho da amostra foram: prevalência de 2%, nível de confiabilidade (erro tipo I) de 5% e nível de precisão de 5%.

O cálculo do tamanho da amostra para amostragem aleatória simples foi:

$$n = Z * Z [P (1-P)] / (D*D)$$

Onde:

Z= valor da distribuição normal padrão correspondente ao nível de confiança desejado (Z= 1,96 para Intervalo de 95% de Confiança - IC 95%)

P= prevalência esperada

D= erro máximo aceitável na estimativa (semi-amplitude do IC - medida de precisão).

Para estimar a soropositividade da população tendo uma prevalência esperada de 2% (P=0,02), com amplitude do IC de 95% de 10% (D=0,05), o número de pessoas a serem investigadas dever ser de:

$$n = 1,96^2 [0,002 (1-0,02)] / (0,05^2)$$

$$n = 3.8416(0.0196)/0.0025$$

n = 30.12

n = 30 Crianças

5.2.3 Coleta de amostras biológicas

No procedimento de coleta do teste do pezinho (Figura 7), os recém-nascidos ficaram em “posição de arrote” para boa circulação de sangue nos pés de forma que fosse suficiente para a coleta da amostra biológica. Após esse procedimento a assepsia do calcânhar foi realizada com algodão umedecido com álcool 70% e a punção executada nas laterais da região plantar do calcânhar com o auxílio de uma lanceta, com um leve movimento da mão para direita e esquerda, para garantir sangramento necessário.

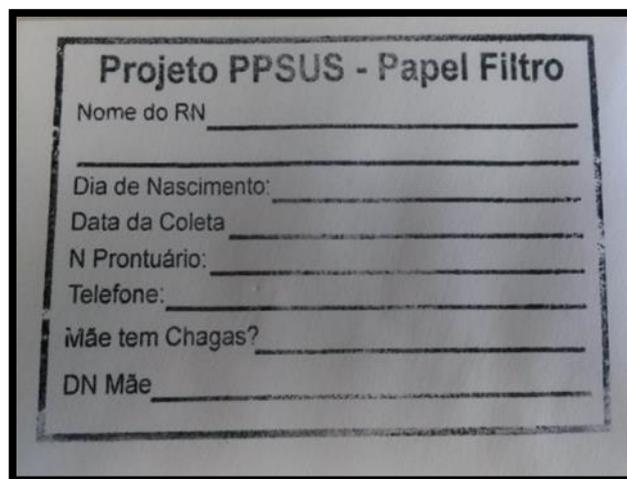


Figura 7 – Foto ilustrativa da realização do Teste do Pezinho. Coleta de sangue da lateral da região plantar do recém-nascido em papel filtro (arquivo do autor).

Após o preenchimento dos círculos de papel filtro com sangue para o teste do pezinho disponibilizado pelo SUS, os recém-nascidos tiveram o acréscimo de um segundo papel filtro em sua coleta sanguínea, para ampliar a pesquisa da triagem neonatal com o diagnóstico para DC.

Os papéis filtro com amostras de sangue foram identificados e posicionados em prateleiras em posição horizontal para evitar o contato com outras amostras e que pudessem secar de forma adequada em temperatura ambiente de 15 a 20°C por cerca de três horas.

Estas amostras de sangue seco em papel filtro foram guardadas em um envelope de identificação, com um questionário preenchido com informações sobre a mãe e sobre a criança durante o processo de coleta (Figura 8).



Projeto PPSUS - Papel Filtro

Nome do RN _____

Dia de Nascimento: _____

Data da Coleta _____

N Prontuário: _____

Telefone: _____

Mãe tem Chagas? _____

DN Mãe _____

Figura 8 – Envelope de identificação do papel filtro usado na pesquisa de triagem sorológica para *T. cruzi*. RN: recém-nascido; DN: data de nascimento; N Prontuário: Número do Prontuário (arquivo do autor).

As amostras biológicas foram encaminhadas até o Laboratório de Estudos da Relação Parasito Hospedeiro da Universidade Federal de Goiás (LAERPH-UFG) para realização de exames sorológico pelo teste de IFI (IgG e IgM) e ELISA (IgG). Os RN que demonstraram titulações consideradas positivas ($IgG \geq 1/40$ e $IgM \geq 1/10$), foram contactados e convidados a coleta de sangue periférico juntamente com a mãe, para haver comparação dos títulos de anticorpos. Um questionário com informações sobre a mãe e sobre o bebê também foi aplicado no dia da coleta (Anexo 3).

Para melhor comodidade dos pacientes, as coletas de sangue periférico foram realizadas em suas respectivas residências. As amostras foram coletadas em tubos com EDTA e no LAERPH-UFG, foram submetidas a separação dos componentes sanguíneos por centrifugação e posteriormente o plasma e o anel leucocitário colocados em tubos *ependorf* distintos devidamente identificados.

Para a identificação dos anticorpos anti-*T. cruzi*, em soro dos RN e das mães foram utilizadas as mesmas técnicas sorológicas anteriormente mencionadas.

Nos casos de infecção congênita suspeita, as crianças seriam convocadas e encaminhadas para a avaliação clínica sob a supervisão de uma pediatra infectologista colaboradora deste projeto.

5.3 Imunofluorescência Indireta – IFI

IFI-Lâminas: O protocolo de Camargo (1964) foi utilizado para IFI. As lâminas foram confeccionadas utilizando formas epimastigotas de cepa Y de *T. cruzi* obtidas por meio de cultivo LIT (*Liver Infusion Tryptose*), *in house*.

Eluatos: A metodologia foi seguida de acordo com o protocolo de Luquetti e colaboradores (2011), com algumas adaptações. Os papéis filtro *Whatman*® nº 1 com 2,2 cm² com sangue seco foram recortados em círculos com 1,25 cm (2,2 cm² de área) de diâmetro, posteriormente toda extensão destes círculos foram recortados novamente em vários pedaços (para melhor aderência do tampão de IFI) e colocados em Eppendorfs de 1,5 mL devidamente identificados, acrescentando 138µL de tampão PBS (*Phosphate Buffered Saline*) pH 7,0. Estes Eppendorfs foram mantidos a 4°C por 14 a 16 horas em câmara úmida. Obtendo-se finalmente eluatos com diluição 1/10.

IFI para detecção de anticorpos IgM-IgG anti-*T. cruzi* em eluato e soro: 10 µL de eluato foram acrescentados ao primeiro poço de cada lâmina, previamente sensibilizada com antígeno de cepa Y de *T. cruzi*, cada amostra (eluato e soro) foi testada com uma diluição de 1/10 e de 1/20. Após incubação a 37°C durante 30 minutos, as lâminas foram lavadas 3 vezes, com 10 minutos em cada passo. Posteriormente foi adicionado o conjugado anti-IgG humano (diluição 1/400) ou anti-IgM humano (diluição 1/200) com isotiocianato de fluoresceína da marca *BioMerieux Brasil*® e incubados a 37°C durante 30 minutos. Foi posteriormente repetido o ciclo de três lavagens e em cada lâmina foi acrescentando glicerol tamponado e lamínula para proceder a leitura em microscópio de fluorescência (CAMARGO, 1964; LUQUETTI et al., 2011).

5.4 Ensaio Imunoenzimático - ELISA

Os papéis filtro *Whatman*® nº 1 com 2,2 cm², foram recortados com perfurador específico de 5mm de diâmetro para realização de exames sorológicos pela técnica de ELISA. Cada recorte foi colocado em um poço da placa de Elisa para detecção de anticorpos IgG anti-*T. cruzi*. A padronização do recorte de 5mm do papel filtro foi realizada pelo teste de ELISA com amostras coletadas em papel filtro e de sangue periférico do mesmo indivíduo e aplicadas na mesma reação, validando os resultados obtido pelo eluato comparados aos do soro. A metodologia do teste de ELISA segue de acordo com o protocolo do kit comercial *Wiener lab*®.

5.5 Validação da sorologia em papel filtro

A validação dos resultados dos papéis filtro foi realizada através da confirmação dos resultados no sangue periférico, através de cálculos de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e índice *Kappa* em uma tabela de contingência ou tabela 2x2 (Tabela 3):

Tabela 3 – Tabela de contingência 2x2

Teste	Padrão Ouro		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	a	b	a+b
Negativo	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	n

Onde segundo PEREIRA, 1995:

- **Sensibilidade:** $a/(a+c)$ É a capacidade que o teste diagnóstico apresenta de detectar os indivíduos verdadeiramente positivos, ou seja, de diagnosticar corretamente os doentes.
- **Especificidade:** $d/(b+d)$ É a capacidade que o teste diagnóstico tem de detectar os verdadeiros negativos, isto é, de diagnosticar corretamente os indivíduos sadios.
- **Valor preditivo positivo:** $a/(a+b)$ É a proporção de doentes entre os positivos pelo teste.

- **Valor preditivo negativo:** $d/(c+d)$ É a proporção de sadios (sem a doença) entre os negativos ao teste.

5.5 Análise dos dados

Foi construído um banco de dados utilizando o software Microsoft Excel tanto para os dados concedidos da APAE no estudo retrospectivo, como para a inserção dos dados sorológicos dos pacientes no estudo prospectivo. Este banco de dados também incluiu dados adquiridos da resolução dos questionários aplicados aos pacientes. Para a análise estatística dos dados foi utilizado o programa *Bioestat*® versão 5.3.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Estudo Retrospectivo

6.1.1 Estudo soroepidemiológico dos dados

Os dados da APAE de Goiânia foram cedidos gentilmente. Nestes, constavam dados de gestantes residentes em todas as microrregiões do estado de Goiás que apresentaram sorologia positiva para DC no Teste da Mamãe, durante o período de 2013 a 2015.

Nos anos de 2013, 2014 e 2015 foram identificadas 188, 150 e 136 gestantes soro positivas para a DC, sendo a soroprevalência de 0,24%, 0,19% e 0,17% respectivamente (Figuras 9 e 10). Estes números mostram que a prevalência da DC em gestantes atendidas pela associação no estado de Goiás foi reduzindo com o decorrer dos anos.

Um levantamento de dados da APAE mostrou que no período de 2003 a 2013, 2.671 gestantes foram identificadas com a DC pelo Teste da Mamãe, tendo frequência de 4,08 casos a cada mil atendimentos. Sendo a quarta doença mais evidente em relação às outras que também são analisadas pelo teste, sendo a Hepatite B a mais prevalente, em segundo lugar Sífilis e em terceiro Toxoplasmose (APAE, 2013).

Martins-Melo e colaboradores (2014) mostraram que a prevalência da infecção pelo *T. cruzi* em mulheres grávidas no Brasil varia de 0,3 a 4,6%, isto de acordo com as regiões do país. A região Centro-Oeste apresentou a menor prevalência, 0,3%, confirmando com os dados do presente trabalho, uma baixa prevalência de gestantes infectadas em Goiás.

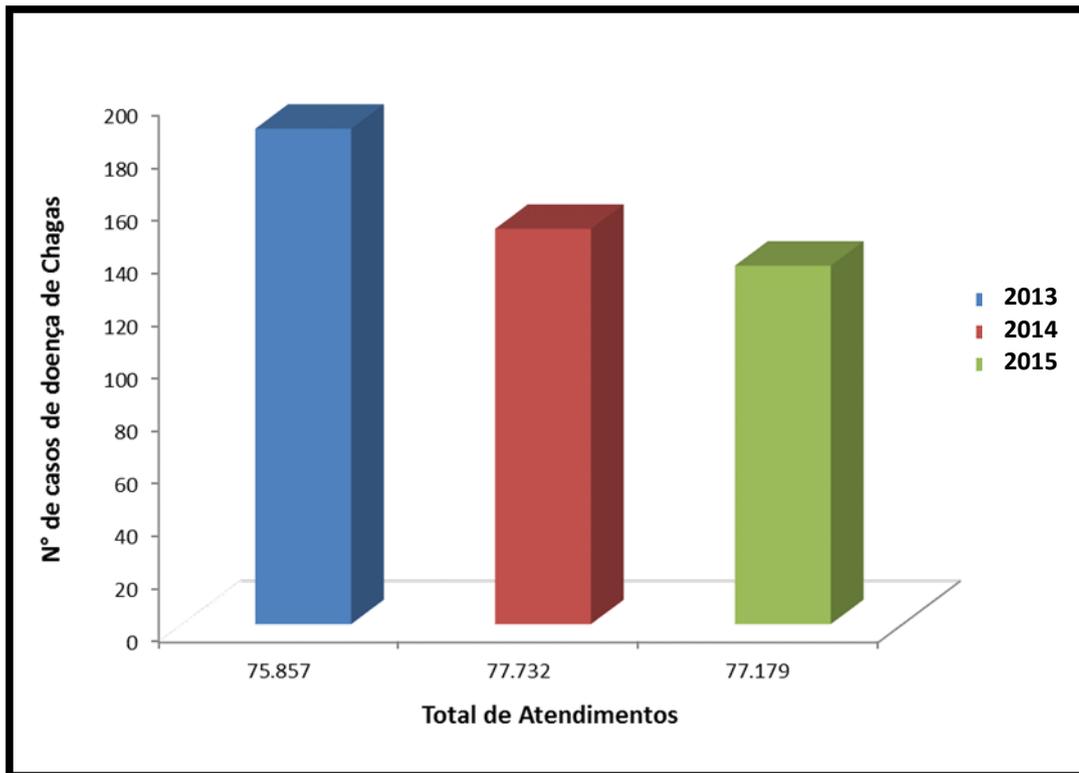


Figura 9 – Número de casos de grávidas detectadas com a doença de Chagas de acordo com o número total de atendimentos no Teste da Mamãe no período de 2013 a 2015.

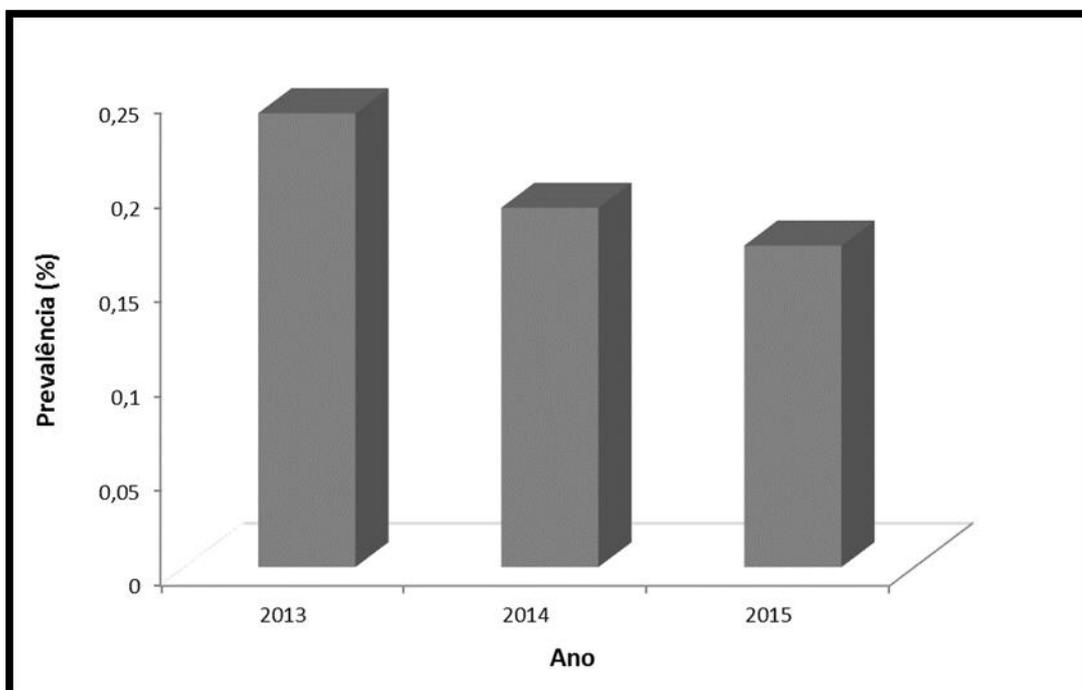


Figura 10 – Prevalência de grávidas com doença de Chagas no Teste da Mamãe com o decorrer dos anos.

A média de idade avaliada durante os anos estudados foi de 32,68 anos em 2013; 31,68 anos em 2014 e 34 anos em 2015. Dados constituídos principalmente por mulheres ≥ 31 anos (Tabela 4). A análise de idade é relevante, quando relacionado aos mecanismos de transmissão. A transmissão vetorial foi considerada a mais importante via durante a década de 70. Os programas de controle vetorial foram iniciados no ano de 1975. Em 2006 o país recebeu a certificação de interrupção da transmissão vetorial da doença pelo *T. infestans* (FIOCRUZ, 2013). Isso indica que grande parte dessa população de mães nasceu antes da certificação de erradicação do principal vetor domiciliar, dando-se indícios de que estas mães foram em sua maior parte infectadas vetorialmente e atualmente situam-se na fase crônica da doença.

Tabela 4 – Estratificação das idades de grávidas com doença de Chagas atendidas no Teste da Mamãe de acordo com cada ano.

IDADE	2013	2014	2015
Até 20 anos	7	15	4
21 a 30 anos	54	42	24
≥ 31anos	127	93	108
Total de mulheres	188	150	136

Legenda: \geq : maior ou igual.

De acordo com alguns autores, essa prevalência de idade mais avançada na população e a redução da prevalência da doença com o decorrer dos anos, podem ser resultantes do sucesso dos programas de controle da transmissão vetorial (pelo *T. infestans*) e transfusional; melhoria habitacional e melhor eficiência do diagnóstico (ALMEIDA & NETO, 2007; WHO, 2008; FIOCRUZ, 2013; PEREIRA et al., 2015).

Já a detecção da infecção em mulheres em idades menos avançadas pode ser inferida a outras vias de transmissão por outras espécies de Triatomíneos, como também, infecções por via oral (ingestão de alimentos contaminados com o barbeiro infectado) ou via congênita (mãe para filho) (CARLIER et al., 2015; MS, 2015). Infecções adquiridas vetorialmente são menos evidenciadas em decorrência das medidas de controle e melhoria social anteriormente mencionada. Porém podem ocorrer casos relacionados diretamente ao ciclo enzoótico, como a transmissão vetorial extradomiciliar ou por visitação de vetores silvestres aos domicílios (SILVEIRA, 2011; MINUZZI-SOUZA et al., 2016).

6.1.2 Estudo sóciodemográfico dos dados

O perfil sóciodemográfico das grávidas identificadas no Teste da Mamãe com a infecção por *T. cruzi* mostrou que durante o período estudado a maioria se encontrava na primeira ou segunda gestação (1-2ª gestação: 2013: 39%, 2014: 43,3%; 2015: 44,8%). Entre 20,7 a 25,7% (2013-2015) dessas mulheres já sofreram abortos, sendo que a maioria (2013-2015: 17-21%) relatou um aborto. Os partos normais foram mais prevalentes durante os anos de 2013 (46,6%) e 2014 (48,4%), já em 2015 este número foi menor (19,8%). Os partos por cesariana ficaram em torno de 22,8% em 2013 e 18% em 2014, enquanto que em 2015 cerca de 27,9% realizaram cesariana. A cor parda foi a mais prevalente nessas grávidas durante todos os anos, variando de 56,3-73,5% (2013-2015). Em seguida a cor branca e negra.

A localização residencial de todos estes casos mostra que a microrregião de Goiânia é onde se encontra a maior concentração de gestantes infectadas (189), detectadas no período de estudo retrospectivo (2013-2015), e em seguida a microrregião do entorno de Brasília (108) (Figura 11). Não foi possível, através dos dados fornecidos pela APAE, saber a naturalidade das gestantes soropositivas, porém por dados não demonstrados neste estudo, é sugestivo que grande parte dos casos de DC em Goiás seja devido a pessoas que migraram de outros estados, como por exemplo, o estado da Bahia, como mostrado em um estudo com grávidas chagásicas no estado de Goiás, onde a maioria (57,4%) da amostra é de mulheres que nasceram na Bahia (SIRIANO, 2007).

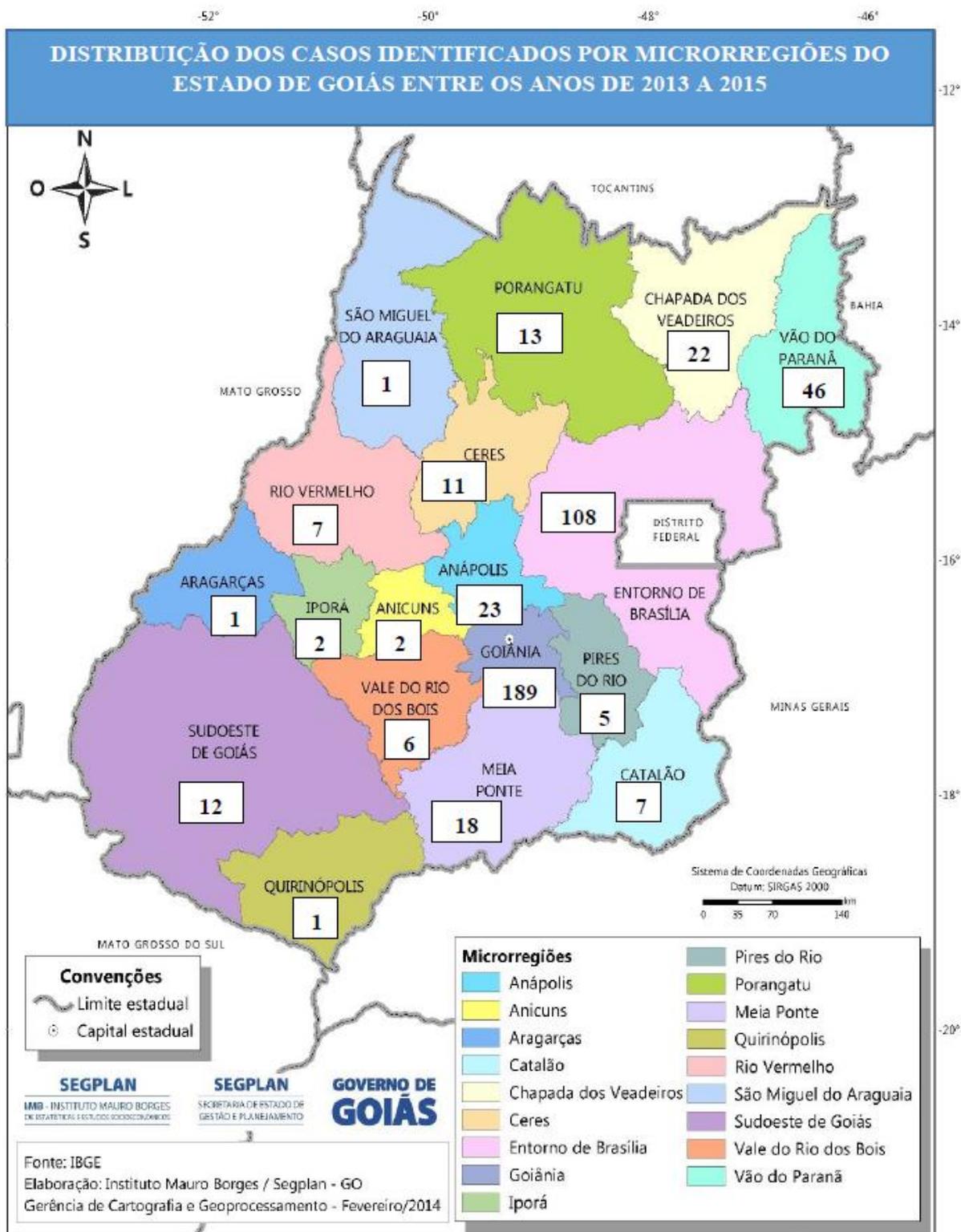


Figura 11 – Distribuição por microrregiões do estado de Goiás dos casos de doença de Chagas em grávidas detectadas pelo Teste da Mamãe no período de 2013 a 2015. Fonte: IBGE, 2014 – Adaptado.

6.1.2.1 Estudo de dados laboratoriais

Os exames laboratoriais das gestantes com DC mostraram que durante o período estudado 92-96,8% dessas mães apresentavam titulações ≥ 640 pelo teste de IFI. Ou seja, elevadas concentrações de anticorpos anti-*T. cruzi* específicos.

O teste da mamãe por ser um teste que avalia inúmeras doenças de grande importância no pré-natal, mostrou que estas mães além de DC, também apresentavam sorologias positivas de outras doenças. Deste modo, anticorpos IgG específicos para Citomegalovírus (2014: 96,3%, 2015: 99,3%) e anticorpos IgG específicos para Rubéola (2014: 98%, 2015: 99,2%) foram os mais evidenciados nas análises de 2014 e 2015, em seguida, anticorpos IgG específicos para Toxoplasmose (2014: 86,6%, 2015: 89%), anticorpos específicos para Sífilis e Hepatite B (2014: 2,2%, 2015: 2,6%), e por fim anticorpos IgM específicos para Toxoplasmose (2014: 1,3%, 2015: 1,4%).

A elevada incidência de anticorpos IgG específicos para Citomegalovírus nestas gestantes é um reflexo da atual situação encontrada na população em geral, devido à sua alta prevalência por ser um vírus de fácil transmissão (KALIL & FLORESCEU, 2009; MENDRONE, 2010). O mesmo caso também ocorre em questão da elevada prevalência nestas mulheres com anticorpos IgG específicos para Toxoplasmose, por se tratar de um parasito que está amplamente distribuído pelo mundo e que possui muitas vias de transmissão. Esta doença está presente em cerca de 60% da população na América Latina (FRENCKEL, 2002; REMINGTON et al., 2006).

A elevada prevalência de anticorpos IgG específicos para Rubéola nestas mães são resultado de campanhas de vacinação contra a própria doença no país, tornando grande parte da população imune. Ou seja, as mulheres que receberam a vacina vão apresentar conseqüentemente anticorpos IgG específicos em suas sorologias. Desde 2009 o país não apresenta casos confirmados de rubéola (BAKSHI & COOPER, 1990; PORTAL DA SAÚDE a, 2014; PORTAL DA SAÚDE, 2015).

A detecção de outras doenças durante a gravidez é de suma importância, pois promove a prevenção de agravos durante e após a gestação (CARTILHA, 2015; MM, 2015). No caso da mãe chagásica, seria de grande importância a detecção do

vírus da imunodeficiência humana (HIV), pois estudos mostram que a coinfeção com este vírus promove maiores probabilidades destas mães transmitirem o parasito ao feto (SARTORI et al., 2007; SCAPELLATO et al., 2009). Ressaltando-se novamente a importância de Pré-natais que envolva exames que detectam todas as patologias que possam ser prejudiciais à gestante e seu feto.

6.2 Estudo Prospectivo

6.2.1 Triagem sorológica em papel filtro e análise da sorologia em papel filtro e comparação com a sorologia convencional em sangue periférico

Foram coletadas 967 amostras de sangue seco em papel filtro (PF) em três unidades de saúde pública de Goiânia e Aparecida de Goiânia. Durante a abordagem para autorização das coletas, 19 (1,96%) mães se autodeclararam infectadas pelo *T. cruzi*. Destas foi coletado sangue periférico (SP) de 18 mães e 19 recém-nascidos, em um caso a mãe se negou a coleta de sangue periférico, mas autorizou a coleta de seu recém-nascido.

A confirmação sorológica foi realizada pelas técnicas de IFI (IgG e IgM) e ELISA (IgG) em todas as amostras coletadas. E em oito (8/19) pares de PF e Soro dos RN foi confirmada a presença de IgG anti-*T. cruzi* (Tabela 5).

Tabela 5 - Comparação e concordância dos resultados sorológicos para doença de Chagas de amostras de sangue coletadas em papel filtro e sangue periférico de recém-nascidos pelos testes de Imunofluorescência Indireta e Ensaio Imunoenzimático.

Total de Amostras	Total de coletas	Papel Filtro	Sangue Periférico	Concordância Sorológica PF/SP	Porcentagem %
Reagente (IgM)	19	0	0	0/19	0%
Reagente (IgG)	19	8	8	8/19	42,1%
Não Reagente (IgM)	19	19	19	19/19	100%
Não Reagente (IgG)	19	11	11	11/19	57,8%

Legenda: PF: papel filtro; SP: sangue periférico; IgM: Imunoglobulina M; IgG: Imunoglobulina G; N°: número absoluto; %: Percentual.

6.2.2 Validação da sorologia em papel filtro

A validação dos resultados dos PF foi realizada pela confirmação dos resultados no sangue periférico, através de cálculos de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e índice *Kappa* em uma tabela de contingência.

Estes cálculos foram realizados com o auxílio do programa *Bioestat* versão 5.3. Seguindo estes critérios, foi obtido 100% de sensibilidade, 100% de especificidade e índice *Kappa* igual a 1 nas técnicas de IFI e ELISA em PF (Tabela 6).

Tabela 6 – Avaliação da eficiência das técnicas de Imunofluorescência Indireta e Ensaio Imunoenzimático em papel filtro. Tendo como padrão ouro os resultados das sorologias realizadas convencionalmente.

Técnicas	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC95%)	VPP % (IC 95%)	VPN % (IC 95%)	Índice <i>Kappa</i>
IFI	100	100	100	100	1
ELISA	100	100	100	100	1

Legenda: VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; IC: índice de confiança; IFI: Imunofluorescência Indireta; ELISA: Ensaio Imunoenzimático; %: percentual.

6.2.3 Comparação dos resultados sorológicos obtidos do sangue periférico das crianças soropositivas com suas respectivas mães

Todas as mulheres grávidas cronicamente infectadas com *T. cruzi* transmitem ao feto anticorpos IgG específicos contra o parasito (SIMISTER, 2003; ENGLUND, 2007), podendo assim gerar dúvidas a respeito do diagnóstico da infecção desta criança, devido à soropositividade que a mesma irá apresentar. Sendo assim, um dos critérios de indicação de infecção congênita é a comparação da concentração dos anticorpos maternos com o do seu respectivo filho. Esta análise foi realizada nos sete (7/19) pares de amostras de sangue periférico (mãe e filho) coletados neste trabalho, pois não foi possível a coleta do sangue periférico de uma das mães, havendo a exclusão da análise de um par.

Houve concordância nestes sete pares de materiais, ambos foram reagentes para anticorpos IgG (Tabela 7). Neste sentido, foi possível observar que tanto pela técnica de IFI como na de ELISA, houve semelhança entre os títulos da concentração de anticorpos dos recém-nascidos e de suas mães (Tabela 8).

As semelhanças entre títulos das mães com seus filhos dão indícios de que são anticorpos maternos, ou seja, foram anticorpos IgG anti-*T. cruzi* específicos que vieram das mães infectadas, atravessaram a barreira placentária e chegaram ao feto durante o período gestacional. É importante salientar a importância do acompanhamento médico nestas crianças, para a observação da negatificação sorológica até os oito meses de vida, período em que os anticorpos IgG das mães desaparecem (CARLIER et al., 2011).

Tabela 7 - Comparação e concordância dos resultados sorológicos para doença de Chagas de amostras de sangue periférico coletadas de recém-nascidos e suas respectivas mães pelo teste de Imunofluorescência Indireta e Ensaio Imunoenzimático.

Total de amostras	Total de coletas	Sangue Periférico IFI		Sangue Periférico ELISA		Concordância Sorológica Mãe/RN	Porcentagem %
		Mãe	RN	Mãe	RN		
Reagente (IgM)	19	0	0	-	-	0/19	0%
Reagente (IgG)	19	7	7	7	7	7/19	36,8%
Não Reagente (IgM)	19	19	19	-	-	19/19	100%
Não Reagente (IgG)	19	11	11	11	11	11/19	57,8%

Legenda: RN: recém-nascido; IgM: Imunoglobulina M; IgG: Imunoglobulina G; IFI: Imunofluorescência Indireta; ELISA: Ensaio Imunoenzimático; %: Percentual.

Tabela 8 - Resultados sorológicos para doença de Chagas pelo teste de Imunofluorescência Indireta (IgG) e Ensaio Imunoenzimático (IgG) de amostras de sangue periférico de mães e seus respectivos recém-nascidos.

Mães	RN	IFI	IFI	ELISA	ELISA
		Mãe	RN	Mãe	RN
M1	RN1	1/128	1/320	2.074	1.967
M2	RN2	1/160	1/80	2.442	2.038
M3	RN3	*	1/160	*	1.047
M4	RN4	1/320	1/80	2.196	1.978
M5	RN5	1/320	1/640	2.064	1.884
M6	RN6	1/320	1/80	1.810	2.099
M7	RN7	1/640	1/320	2.792	3.150
M8	RN8	1/80	1/80	2.660	1.449

Legenda: M: mãe; RN: recém-nascido; *: sem coleta de material biológico; IFI: Imunofluorescência Indireta; ELISA: Ensaio Imunoenzimático.

Durante o estudo foi possível observar que em questões de custo benefício, a triagem pelo Teste do Pezinho não se mostrou eficiente na triagem dos RN infectados, devido à baixa e variável prevalência de mães cronicamente infectadas, e conseqüentemente de transmissão congênita. Corroborando com estudos na literatura (LUQUETTI et al., 2011; HOWARD et al., 2014; MARTINS-MELO et al., 2014). A melhor estratégia a ser seguida seria a inclusão nacional da triagem da DC em gestantes (triagem pré-natal) e posteriormente o acompanhamento médico e

laboratorial dos filhos que vierem a nascer destas mães com infecção confirmada. Assim como atualmente é executado na APAE, crianças que nasceram de mães detectadas no Teste da Mamãe com a DC são direcionadas a realizar a sorologia entre o sétimo ao o nono mês de vida para a constatação de casos de transmissão congênita e se houver a confirmação da infecção, estas crianças são direcionadas ao acompanhamento médico e posteriormente serão sujeitas ao tratamento específico que possibilita grandes chances de cura se administradas neste período (GONTIJO et al., 2009; CARTILHA, 2015; MM, 2015). Seguindo o *screening* recomendado pelo Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (CBDC, 2005; CBDC, 2016).

Atualmente estes programas de triagem pré-natal estão somente em vigor em dois estados do Brasil (Goiás e Mato Grosso do Sul). Neste contexto, é importante ressaltar a necessidade de programas de triagem Pré-natal em âmbito nacional. De acordo com a OMS (2010) a chave para a prevenção da transmissão congênita seria o diagnóstico de mulheres grávidas infectadas e a detecção precoce da infecção em neonatos (prevenção secundária). Outros autores reforçam a mesma ideia, relatam que o rastreio de mulheres grávidas em risco é uma intervenção de custo-benefício, pois possibilita o diagnóstico precoce da DC congênita e também promove melhoria na qualidade de vida e no prognóstico destes pacientes (BILLOT et al., 2005; SICURI et al., 2011; ALONSO-VEGA et al., 2013; EDWARDS et al., 2015).

Por outro lado, foi possível observar que em 11 materiais em que as mães se autodeclararam infectadas, as sorologias dos RN e das mães não foi reagente. Isto é indicativo de que estas mães não estão cronicamente infectadas e que provavelmente não realizaram um pré-natal adequado com a triagem para a DC. Esta situação também revelou o não conhecimento destas mulheres a respeito da doença. Problemas que nos remete à falhas de atenção primária. Schofield e colaboradores (2006) ressaltam que uma abordagem de saúde primária é necessária para a detecção e tratamento de novos casos da DC. Sendo assim, é importante ressaltar a importância de investimentos em programas de conscientização sobre a DC e conseqüentemente a possibilidade de transmissão congênita.

6.2.4 Análises de dados dos questionários

Foram realizados sete questionários em mães com sorologia confirmada para a DC neste estudo.

Durante as análises foi possível constatar que a média de idade destas mães foi de 33,4 anos. Essa prevalência de idade mais avançada nestas mães é reflexo da atual situação no Brasil, como já mencionado neste trabalho. Sendo resultados consequentes da implementação de programas que visaram à interrupção da transmissão vetorial e transfusional, da melhoria habitacional e entre outros benefícios, que consideravelmente evitaram e diminuíram o índice de novos casos de DC no país. Portanto, prevalecendo pessoas que vieram a nascer na época em que ainda não havia efetivação das medidas de controle. Um estudo que avaliou a prevalência de DC em grávidas em todo país, também mostrou maior prevalência em mulheres com idade superior a 30 anos (1,4%) (MARTINS-MELO et al., 2014). Esta situação também é evidente em outros países, como por exemplo, na Colômbia, onde grande parte da população de grávidas infectadas possui idade ≥ 32 anos (CASTELLANOS-DOMÍNGUEZ et al., 2016). Na Argentina e Bolívia também, os resultados em relação à idade são semelhantes aos detectados neste trabalho (BLANCO et al., 1999; BRUTUS et al., 2010).

A maioria das gestantes que responderam ao questionário (85%) nasceu no estado da BA. Viveram a infância na terra natal e posteriormente migraram para o estado de Goiás onde habitam atualmente. Apenas uma nasceu no estado de origem do estudo (GO). Sendo condizente também com outro estudo no estado de GO, que mostrou que 57,4% das mulheres grávidas com DC tinha a naturalidade também da BA, constituindo-se pela naturalidade mais prevalente durante as análises (SIRIANO, 2007).

Foi evidente que todas estas mães moravam em zona urbana. Assim como as análises de estudos em todo o país realizadas por Martins-Melo e colaboradores (2014). A maioria destas mulheres no presente estudo era casada e cursaram o ensino médio completo. Cerca de 85,7% destas mães eram de cor parda e possuíam em sua maioria renda familiar de um a dois salários mínimos (baixa renda).

Das mulheres entrevistadas, 57,1% tiveram três gestações. Três mães relataram já ter sofrido aborto, sendo que cada uma delas tiveram apenas um. Atualmente o aborto é um assunto controverso, devido a existência de autores que defendem (OLIVEIRA et al., 1966; TERUEL & NOGUEIR, 1970; SCHENONE et al., 1985) e outros que discordam dessa possível relação da causa ser a infecção pelo *T. cruzi* (BLANCO et al., 2000; GEBREKRISTOS & BUEKENS, 2014).

Quatro destas mães relataram terem visto “barbeiros” nas residências onde moravam no estado da BA. Todas não sabem ao certo como adquiriram a doença, porém suspeitam de via vetorial ou via congênita.

Todas as mães souberam da infecção através do Teste da Mamãe, porém nem todas (2/7) realizaram o teste desde a primeira gestação. Situação semelhante ao caso do pré-natal com acompanhamento médico, pois apenas 57% destas mães fizeram esse tipo de acompanhamento. Isto reforça novamente a importância que se tem em realizar a triagem pré-natal e o acompanhamento médico de grávidas e seus respectivos filhos. Estima-se que grande parte da população possui a DC, porém não possuem conhecimento. Isto se deve ao grande percentual de pessoas que se mantem por muitos anos em fase assintomática da doença. Não havendo então a busca de atendimento médico que vise o diagnóstico da moléstia (REZENDE & LUQUETTI, 1994; RASSI et al., 2009; SOUZA, 2013).

Quatro mães relataram ter sofrido complicações durante a última gestação. Estes sintomas foram: desmaios, dormência nas mãos, fraqueza, anemia, dores, problema renal e queda de pressão. Por se tratar de sintomas inespecíficos e adversos, não existem informações suficientes que confirme uma possível relação entre a DC existente e a sintomatologia relatada. Estas mães não apresentaram outras doenças além da DC.

Todos os RN destas mães nasceram aparentemente normais em questão de peso, tamanho e tempos de gestação (sem prematuros). A análise sorológica das crianças e a comparação de títulos com o soro da mãe sugerem-se que estas crianças não estariam infectadas, ou seja, não adquiriram a DC da mãe durante a vida intrauterina. Porém é importante salientar que ainda existam as chances de transmissão congênita se caso estas mesmas mães vierem a ter novas gestações. Estudos mostram que grande parte das crianças com infecção congênita nascem

assintomáticas (BITTENCOURT et al., 1984; NISIDA et al., 1999; BLANCO et al., 2000), enfatizando novamente a importância do diagnóstico da infecção congênita e posteriormente o acompanhamento médico.

Todos estes dados referentes a análises dos questionários estão descritos no quadro 1.

Dados obtidos de questionários realizados em mães com Doença de Chagas			
		n /Total	%
Idade	Até 20 anos	0/7	0
	21 a 30 anos	3/7	42,8%
	≥31 anos	4/7	57,1%
Naturalidade	Goiás (GO)	1/7	14,2%
	Bahia (BA)	6/7	85,7%
	Outros	0/7	0%
Residência	Zona Rural	0/7	0%
	Zona Urbana	7/7	100%
Estado civil	Solteira	3/7	42,8%
	Casada	4/7	57,1%
Grau de escolaridade	Sem escolaridade	1/7	14,2%
	Fundamental incompleto	2/7	28,5%
	Ensino médio completo	4/7	57,1%
Renda familiar	1-2 Salário mínimo	6/7	85,7%
	3-4 Salários mínimos	1/7	14,2%
Cor/Raça	Branca	1/7	14,2%
	Parda	6/7	85,7%
	Negra	0/7	0%
Número de gestações	1 gestação	1/7	14,2%
	2 gestações	1/7	14,2%
	3 gestações	4/7	57,1%
	4 gestações	0/7	0%
	5 gestações	1/7	14,2%
Abortos	Sim	3/7	42,8%
	Não	4/7	57%
Quantidade de abortos	1 aborto	3/7	42,8%
	+ de 1 aborto	0/7	0%
Contato próximo ao barbeiro	Sim	4/7	57%
	Não	3/7	42,8%
Pré-natal em todas gestações	Sim	4/7	57%
	Não	3/7	42,7%
Resultados do Pré-Natal	Apenas DC	7/7	100%
	Outras doenças	0/7	0%
Como souberam da infecção	Teste da Mamãe	7/7	100%
	Exames de Rotina	0/7	0%
Complicação durante a última gestação	Sim	4/7	57%
	Não	3/7	42,7%
Transfusão	Sim	0/7	0%
	Não	7/7	100%
Doação de órgãos	Sim	0/7	0%
	Não	7/7	100%

Quadro 1 – Resultados das análises dos questionários aplicados em mães com doença de Chagas.

7 CONCLUSÕES

- **Estudo retrospectivo:**

No estudo retrospectivo das análises dos dados consentidos pela APAE foi possível observar que durante o período analisado (2013-2015) a prevalência de gestantes com DC diminuiu com o decorrer dos anos. E que a maioria delas apresentavam idade ≥ 31 anos, cor parda e eram residentes na microrregião de Goiânia.

- **Estudo prospectivo:**

No estudo prospectivo, foi possível observar que apesar de não ter sido detectado nenhum recém-nascido congenitamente infectado, a triagem sorológica em papel filtro poderá ser uma estratégia utilizada, pois foi notório que a sensibilidade da sorologia utilizando papel filtro possui a mesma sensibilidade observada no sangue circulante, como demonstrado pela comparação dos resultados sorológicos obtidos em amostras de sangue em papel filtro e com sangue periférico, apresentando eficiência e determinando a validação da reprodução da técnica.

A comparação da sorologia em sangue periférico das crianças e de suas respectivas mães demonstrou semelhanças em 100% das amostras, sendo este método considerado um bom critério para seleção de crianças com suspeita de infecção congênita.

Também foi possível observar que as gestantes não possuem conhecimento satisfatório sobre as infecções de transmissão congênita, no caso a DC, pois a maioria das gestantes que se autodeclararam infectadas eram soronegativas.

Devido à baixa e variável prevalência de mães cronicamente infectadas com *T. cruzi* e conseqüentemente de transmissão congênita, o pequeno número de amostras analisadas neste estudo, não permitiu a conclusão final sobre a inclusão da triagem de RN infectados pelo Teste do Pezinho.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- **Estudo retrospectivo:**

O declínio da prevalência de gestantes com a infecção observado e a prevalência destas mulheres com idades superiores ou iguais a 31 anos corroboram o sucesso de programas de controle da transmissão vetorial (do *T. infestans*) e transfusional, melhoria habitacional e melhor eficiência do diagnóstico.

- **Estudo prospectivo:**

No quesito custo-benefício, a implementação a triagem de RN infectados DC pelo Teste do Pezinho torna-se inviável. A melhor estratégia a ser seguida seria primeiramente a identificação das gestantes infectadas (triagem pré-natal) e posteriormente o acompanhamento médico e laboratorial dos filhos.

Atualmente existem programas que seguem este *screening*, porém estão presentes em apenas dois estados brasileiros. Diante disto, é importante ressaltar a importância de programas de triagens pré-natais que funcione em âmbito nacional.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E.A.; NETO, R.M.B.; GUARIENTO, M.E.; WANDERLEY, J.S.; SOUZA, M.L. Apresentação clínica da doença de Chagas crônica em indivíduos idosos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 40, p. 311–315, 2007.

ALONSO-VEGA, C.; BILLOT, C.; TORRICO, F. Achievements and challenges upon the implementation of a program for national control of congenital Chagas in Bolivia: results 2004–2009. **P. Negl. Trop. Dis.**, v. 7, p. 2304, 2013.

ALTCHEH, J.; MOSCATELLI, G.; MORONI, S.; GARCIA-BOURNISSEN, F.; FREILIJ, H. Adverse events after the use of benznidazole in infants and children with Chagas disease. **Pediatr.**, v. 127, n. 1, p. 212–218, 2011.

ANDREOLLO, N. A.; MALAFAIA, O. Os 100 anos da doença de Chagas no Brasil. **ABCD, arq. bras. cir. dig.** São Paulo, v. 22, n. 4, p. 185-191, 2009.

ANTAS, P.R.; AZEVEDO, E.N.; LUZ, M.R.; MEDRANO-MERCADO, N.; CHAVES, A.C.; VIDIGAL, P.G.; VOLPINI, A.C.; ROMANHA, A.J.; ARAÚJO-JORGE, T.C. A reliable and specific enzyme-linked immunosorbent assay for the capture of IgM from human chagasic sera using fixed epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*. **Paras. Res.**, v. 86, n. 10, p. 813-20, 2000.

APAE. Associação de pais e Amigos dos Excepcionais de Goiânia. **APAE**. 2015. Disponível em: <<http://www.goiania.apaebrasil.org.br/>> Acesso em: 04/09/2015.

APAE. Programa de Proteção à Gestante do Estado de Goiás. **APAE**. 2013. Disponível em: <<http://goiania.apaebrasil.org.br/artigo.phtml?a=14071>>. Acessado em: 05/07/2016.

BAKSHI, S.; COOPER, L.Z. Rubella and mumps vaccines. **Pediatr. Clin.North. Am.**, v. 37, p. 651-68,1990.

BASOMBRÍO, M.A.; NASSER, J.; SEGURA, M.A.; MARCO, D.; SANCHEZ NEGRETE, O. La transmisión de la enfermedad de Chagas en Salta y la detección de casos congénitos. **Med.**, v. 59, n. 2, p. 143–146, 1999.

BILLOT, C.; TORRICO, F.; CARLIER, Y. Cost effectiveness study of a control program of congenital Chagas disease in Bolivia. **Rev.Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 2, p. 108–113, 2005.

BIOLO, A.; RIBEIRO, A.L.; CLAUSELLA, N. Chagas cardiomyopathy - Where do we stand after a hundred years? **Prog. Card. Dis.**, v. 52, p. 300-316, 2010.

BISIO, M.; ALTCHEH, J.; LATTNER, J.; MOSCATELLI, G.; FINK, V.; BURGOS, J. M.; FREILIJ, H. Benznidazole Treatment of Chagasic Encephalitis in Pregnant Woman with AIDS. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 19, n. 9, p.1490–1492, 2013.

BITTENCOURT, A. L. Placentite chagásica e transmissão congênita da doença de Chagas. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 5, p. 62-67, 1963.

BITTENCOURT, A.L. Possible risk factors for vertical transmission of Chagas' disease. **Rev. Inst. Med. Trop. SP.**, v. 34, n. 5, p. 403–408, 1992.

BITTENCOURT, A.L.; VIEIRA, G.O.; TAVARES, H.C.; MOTA, E.; MAGUIRE, J. Esophageal involvement in congenital Chagas' disease. Report of case with megaesofagus. **Amer. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 33, p. 30-33, 1984.

BLANCO, S.B.; SEGURA, E.L.; CURA, E.N.; CHUIT, R.; TULIAN, L.; FLORES, I. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* : an operational outline for detecting and treating infected infants in north-western Argentina . **Trop. Med. Int. Health.**, v. 5, n. 4, p. 293–301, 2000.

BLANCO, S.B.; SEGURA, E.L.; GÜRTLER, R.E. Control of congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Argentina. **Medi. (B Aires)**, v. 59, n. 2, p. 138–142. 1999.

BRABIN, L. The epidemiological significance of Chagas' disease in women. **M. do Inst. Osw. C.**, v. 87, n. 1, p. 73–79, 1992.

BRENNER, Z.; ANDRADE, Z.A.; BARRAL-NETO, M. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2ª ed. Rio de Janeiro: **G. Ko.**, p. 431, 2000.

BRUTUS, L.; CASTILHO, H.; BERNAL, C.; SALAS, N. A.; SCHNEIDER, D.; SANTALLA, J. A; CHIPPAUX, J. P. Detectable *Trypanosoma cruzi* Parasitemia during Pregnancy and Delivery as a Risk Factor for Congenital Chagas Disease. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 83, n. 5, p. 1044-1047, 2010.

BUA, J.; VOLTA, B.J.; VELÁZQUEZ, E.B.; RUIZ, A.M.; RISSIO, A.M.; CARDONI, R.L. Vertical transmission of *Trypanosoma cruzi* infection: quantification of parasite burden in mothers and their children by parasite DNA amplification. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 106, p. 623-628, 2012.

CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 6, p. 117-118, 1964.

CARLI, G.A. Parasitologia Clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para diagnóstico de parasitoses humanas. **Atheneu**. São Paulo, 2001.

CARLIER, Y. et al. Congenital Chagas disease: an update. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro. v. 110, n. 3, p. 363-368, 2015.

CARLIER, Y.; TORRICO, F. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, n. 6, p. 767-771, 2003.

CARLIER, Y.; TORRICO, F.; SOSA-ESTANI, S.; RUSSOMANDO, G.; LUQUETTI, H.F.; VINAS, P.A. Congenital Chagas Disease: Recommendation for Diagnosis, Treatment and Control of Newborns, Siblings and Pregnant Women. **P. Negl. Trop. Dis.**, v. 5, n. 10, p. 1250, 2011.

CARLIER, Y.; TRUYENS, C. Maternal-fetal transmission of *Trypanosoma cruzi*. In: American Trypanosomiasis – Chagas Disease. **O. Hund. Y. Rev. Elsev.**, p. 539-581, 2010.

CARLIER, Y.; TRUYENS, C.; DELORON, P.; PEYRON, F. Congenital parasitic infections: a review. **Acta. Tropica**. v. 121, n. 2, p. 55–70, 2012.

CARTILHA. Programa de Proteção à Gestante do Estado de Goiás: Patologias triadas no Pré-natal. **EG/MS/SES-GO/SMS**. Disponível em: <www.goiania.apaebrasil.org.br/arquivo.phtml?a=19727> Acesso em: 04/09/2015.

CASTELLANOS-DOMÍNGUEZ, Y. Z.; CUCUNUBÁ, Z. M.; OROZCO, L. C.; VALENCIA-HERNÁNDEZ, C. A.; LEÓN, C. M.; FLOREZ, A. C.; PUERTA, C. J. Risk factors associated with Chagas disease in pregnant women in Santander, a highly endemic Colombian area. **Trop. Med. & Inter. Health.**, v. 21, n. 1, p. 140–148., 2016.

CBDC (Consenso Brasileiro em Doença de Chagas). **Rev. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 3, p. 7-29, 2005.

CBDC. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas 2015. 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ress/v25nspe/2237-9622-ress-25-esp-00007.pdf>>. Acesso em: 06/07/2016.

CDC. Parasites- American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease). **CDC**.2015. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html/>>. Acesso em 28/07/2015.

CEVALLOS, A. M.; HERNÁNDEZ, R. Chagas' Disease: Pregnancy and Congenital Transmission. **Bio. Res. Int.**, v. 2014, p. 10, 2014.

CHAGAS, C. Nova entidade mórbida do homem: Rezumo geral de estudos etiológicos e clínicos. **Mem. Inst. Osw. C.**, v. 3, p. 219-275, 1911.

CHAGAS, C. Nova tripanozomiose humana: Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *schizotrypanum cruzi* n. Gen., n. Sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. **Mem. Inst. Osw. C** v.1, p. 159-218,1909.

CHIEFFI, P.P.; AMATO NETO, V. Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do *Trypanosoma cruzi*. **Inst. Med. Trop. SP.**, 2000.

CHOCAIR, P.R.; SABBAGA, E.; AMATO NETO, V.; SHIROMA, M.; GÓES, G.M. Transplante de rim: nova modalidade de transmissão da doença de Chagas. **Ver. Inst. Med. Trop.**, v. 23, p. 280-292, 1981.

CNS. Conselho Nacional da Saúde. **Minist. da Saúde**. 2013. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/index.html>. Data de acesso: 16/06/2016.

CORRALES, R.M.; MORA, M.C.; NEGRETTE, O.S.; DIOSQUE, P.; LACUNZA, D.; VIRREIRA, M.; BRENIERE, S.F.; BASOMBRIO, M.A. Congenital Chagas disease involves *Trypanosoma cruzi* sub-lineage IId in the northwestern province of Salta, Argentina. **Infect. Genet. Evol.**, v. 9, p. 278-282, 2009.

CORREA, V.R.; BARBOSA, F.G.; MELO JUNIOR, A.; CASTRO, L.F.D.C.; ANDRADE JUNIOR, H.F.A.; NASCIMENTO, N. Uneventful benznidazole treatment of acute Chagas disease during pregnancy: a case report. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Uberaba, v. 47, n. 3, p. 397-400, 2014.

COURA, J.R.; ANUNZIATO, N.; WILLCOX, H.P.F. Morbidade da doença de Chagas. I. Estudo de casos de vários estados do Brasil observados no Rio de Janeiro. **Mem. Inst. Oswal. Cr.**, v. 78, p. 363-372, 1983.

COURA, J.R.; VIÑAS, P.A. Chagas disease: a new worldwide challenge. **Rev. Nat.**, v. 465, n. 7301, p. S6-S7, 2010.

DAO, L. Otros casos de enfermedad em el Estado Guarico (Venezuela): formas agudas y crônicas; observaciones sobre la enfermedad de Chagas congênita. **Rev. Policl.**, v. 17, p. 17-32, 1949.

DE ORY, F.; DOMINGO, C.J. Los análisis de avidéz de la IgG específica en el diagnóstico de la infección por el virus de la rubéola. **Med. Clin.**, v. 107, p.118, 1996.

DIAS, J. C. P.; AMATO NETO, V. Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do trypanosoma cruzi no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Uberaba. v. 44, n. 2, p. 68-72, 2011.

DIAS, J.C.; PRATA, A.; CORREIA, D. Problems and perspectives for Chagas disease control: in search of a realistic analysis. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 41, p. 193-196, 2008.

DIAS, J.C.P. C. S. Doença de Chagas. In: Atheneu, ed. **Infec. Ped.**, São Paulo, p. 821-49, 2007.

DIAS, J.C.P.; MACEDO, V.O. Doença de Chagas. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. **G. Ko.** Rio de Janeiro, p. 557-594, 2005.

DIAS, J.C.P.; SCHOFIELD, C.J. The evolution of Chagas disease (American trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas Discovery. **Mem. Inst. Osw. C.**, v. 94, n. 1, p. 103-121, 1999.

DIEZ, C.N.; MANATTINI, S.; ZANUTTINI, J.C.; BOTTASSO, O.; MARCIPAR, I. The value of molecular studies for the diagnosis of congenital Chagas disease in northeastern Argentina. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 78, n. 4, p. 624-7, 2008.

DLADTCC. I Diretriz Latino-Americana para o diagnóstico e tratamento da cardiopatia chagásica: resumo executivo. **Arq. Bra. de Card.** 2011. Disponível em: <http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2011/diretriz_cardiopatia_chagasica.pdf>. Acessado em: 18/06/2016.

EDWARDS, M.S.; RENCH, M.A.; TODD, C.W.; CZAICKI, N.; STEURER, F.J.; BERN, C.; MONTGOMERY, S.P. Perinatal screening for Chagas disease in Southern Texas. *Jorn. Ped. In. Dise. Soc.*, v.4, n.1, p. 67-70, 2015.

EMELIA, O.; RAHANA, A.R.; MOHAMAD, F. A.; CHENG, H.S.; NURSYAIRAH, M.S.; FATINAH, A.S.; AZMAWATI, M.N.; SITI, N.A.M.; AISAH, M.Y. IgG avidity assay: A tool for excluding acute toxoplasmosis in prolonged IgM titer sera from pregnant women. **Trop. Biomed.**, v. 31, p. 633-640, 2014.

ENGLUND, J.A. The influence of maternal immunization on infant immune responses. **J. Comp. Pathol.**, v. 137, n. 1, p. S16-S19, 2007.

FABBRO, D.L.; DANESI, E.; OLIVERA, V.; CODEBÓ, M.O.; DENNER, S.; HEREDIA, C.; STREIGER, S.; SOSA-ESTANI, S. Trypanocide treatment of women infected with *Trypanosoma cruzi* and its effect on preventing congenital Chagas disease. **PLoS. Negl. Trop. Dis.**, v. 8, p. 3312, 2014.

FERREIRA, C.S.; MARTINHO, P.C.; AMATO-NETO, V.; CRUZ, R.R.B. Pasteurization of human milk to prevent transmission of Chagas disease. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 43, n. 3, p. 161-2, 2001.

FIOCRUZ. Doença de Chagas. **Fio Cruz**. 2013. Disponível em: <<https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7a-de-chagas>>. Acessado em: 20/05/2016.

FONSECA, Z.C.; RODRIGUES, I.M.X.; MELO, N.C.; CASTRO, A.M.; AVELINO, M.M. Importância no teste de avidéz IgG na toxoplasmose congênita. **Rev. Patol.Trop.**, v. 45, n. 1, p. 42-54, 2016.

FRENCKEL JK. Toxoplasmose. In: VERONESI, R. Tratado de infectologia. **Athen.**, 2002.

FUNASA. Impactos na saúde e no Sistema Único de Saúde decorrentes de agravos relacionados a um saneamento ambiental inadequado. **Fundação Nacional da Saúde**. 2010. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/estudosPesquisas_ImpactosSaude.pdf>. Acessado em: 25/05/2016.

GARCIA, A.; ORTIZ, S.; IRIBARREN, C.; BAHAMONDE, M.I.; SOLARI, A. Congenital co-infection with different *Trypanosoma cruzi* lineages. **Paras. Int.**, v. 63, p. 138-139, 2014.

GARCÍA, M.M.; RISSIO, A.M.; VILLALONGA, X.; MENGONI, E.; CARDONI, R.L. Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors (sTNF-R1 and -R2) in pregnant women chronically infected with *Trypanosoma cruzi* and their children. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 78, p. 499-503, 2008.

GEBREKRISTOS, H. T.; BUEKENS, P. Mother-to-Child Transmission of *Trypanosoma cruzi*. **J. of the Ped. Infect. Dis. S.**, v. 3, n. 1, p. S36–S40, 2014.

GONTIJO, E.D.; ANDRADE, G.M.Q.; SANTOS, S.E.; GALVÃO, L.M.C.; MOREIRA, E.F.; PINTO, F.S.; DIAS, J.C.P.; JANUÁRIO, J.N. Triagem neonatal da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em Minas Gerais Brasil: transmissão congênita e mapeamento das áreas endêmicas. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 18, n. 3, p. 243-254, 2009.

GUHI, F.; AGUILERA, G.; PINTO, N.; MOJICA, M.T.; ESPITIA, C.; HIGUERA, A. Distribución y dinámica poblacional de las principales especies vectoras de la Enfermedad de Chagas en Colombia. **M. VIII C. Int.**, p. 53 – 60, 2005.

GUISASOLA, M.E.; RAMOS, B.; SANZ, J.C.; GARCÍA-BERMEJO, I.; ORY MANCHO'N, F. Comparison of IgG avidity assays in the confirmation of the diagnosis of cytomegalovirus primary infection. **A.P.M.I.S.**, v. 118, n. 12), p. 991-3, 2010.

GURTLER, R.E.; SEGURA, E.L.; COHEN, J.E. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* infection in Argentina. **Emerg. Infect. Dis.**, v.9, p. 29–32, 2003.

HERMANN, E.; TRUYENS, C.; ALONSO-VEJA, C.; RODRIGUEZ, P.; BERTHE, A.; TORRICO, F.; CARLIER, Y. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* is associated with maternal enhanced parasitemia and decreased production of interferon-gamma in response to parasite antigens. **J. Infect. Dis.**, v. 189, p. 1274-1281, 2004.

HOWARD, E.J.; XIONG, X.; CARLIER, Y.; SOSA-ESTANI, S.; BUEKENS, P. Frequency of the congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: a systematic review and meta-analysis. **BJOG**. v. 121, p. 22-33, 2014.

IBGE. Microrregiões do IBGE. 2014. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/down/mapas/microrregioes%20-%20ibge/microrregioes_do_estado_de_goias_ibge.pdf>. Acesso em: 06//07/2015.

IPED (Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnóstico da APAE). Programa de Proteção à Gestante em MS e Goiás. **Rev. Triag.**, n. 15, 2009.

JUNQUEIRA, A. C. V.; GONÇALVES, T. C. M.; MOREIRA, C. J. C. Manual de capacitação na detecção de *Trypanosoma cruzi* para microscopistas de malária e laboratoristas da rede pública. 2ª ed. **SCV/ICT**. 2011.

JUNQUEIRA, JR. L.F. Insights into the clinical and functional significance of cardiac autonomic dysfunction in Chagas disease. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 45, p. 243-252, 2012.

KALIL, A.C.; FLORESCU, D.F. Prevalence and mortality associated with cytomegalovirus infection in nonimmunosuppressed patients in the intensive care unit. **Crit Care Med.**, v. 37, p. 2350–2358, 2009.

LEE, B.Y.; BACON, K.M.; BOTTAZZI, M.E.; HOTEZ, P.J. Fardo económico global da doença de Chagas: um modelo de simulação computacional. **Lancet. Infect. Dis.**, v. 13, n. 4, p. 342-8, 2013.

LIESENFELD, O.; MONTOYA, J.G.; KINNEY, I. Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: experience in a US reference laboratory. **J. Infect. Dis.**, v.15, p.1248- 1253, 2001.

LUQUETTI, A. O.; TAVARES, S.B.N.; SIRIANO, L.R.; OLIVEIRA, R.A.; CAMPOS, D.E.; DE MORAIS, C.A.; DE OLIVEIRA, E.C. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in central Brazil. A study of 1,211 individuals born to infected mothers. **Mem. Inst. Osw. C.**, v. 110, n. 3, p. 369-376, 2015.

LUQUETTI, A.O.; PASSOS, A.D.; SILVEIRA, A.C.; FERREIRA, A.W.; MACEDO, V.; PRATA, A.R. The national survey of seroprevalence for evaluation of the control of Chagas disease in Brazil (2001-2008). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 44, n. 2, p. 108-121, 2011.

MARTINS-MELO, F. R.; LIMA, M. D. S.; RAMOS, A. N.; ALENCAR, C. H.; HEUKELBACH, J. Systematic review: Prevalence of Chagas disease in pregnant women and congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Trop. Med. Int. Heal.**, v. 19, p. 943–957, 2014.

MARTINS-MELO, F.R.; RAMOS JUNIOR, A.N.; ALENCAR, C.H.; HEUKELBACH, J. Multiple causes of death related to Chagas' disease in Brazil, 1999 to 2007. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 45, p.591–596, 2012.

MENDRONE, A. J. Prevalência da infecção pelo citomegalovírus: a importância de estudos locais. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 32, n. 1, p. 7-8, 2010.

MINUZZI-SOUZA, T.T.C.; NITZ, N.; KNOX, M.B.; REIS, F.; HAGSTROM, L.; CUBA, C.A.C.; HECHT, M.M.; GURGEL-GONÇALVES, R. Vector-borne transmission of *Trypanosoma cruzi* among captive Neotropical primates in a Brazilian zoo. **Parast. Vect.**, v. 9, p. 39, 2016.

MM (Manual da Mamãe). Teste da mamãe. **APAE**. 2015. Disponível em: <http://www.manualdamamae.com.br/inc/saudemame_protecao.html> Acesso em: 04/09/2015.

MORA, M.C.; SANCHEZ NEGRETTE, O.; MARCO, D.; BARRIO, A.; CIACCIO, M.; SEGURA, M.A.; BASOMBRÍO, M.A.. Early diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection using PCR, hemoculture, and capillary concentration, as compared with delayed serology. **J. Parasitol.**, v. 91, n.6, p.1468-73, 2005.

MOYA, P.; BASSO, B.; MORETTI, E. Congenital Chagas disease in Córdoba, Argentina: epidemiological, clinical, diagnostic, and therapeutic aspects. Experience of 30 years of follow up. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 2, p. 33–40, 2005.

MS (Ministério da Saúde). Doença de Chagas aguda no Brasil: série histórica de 2000 a 2013. **SVS – Ministério da Saúde**, v. 46, n. 21, 2015. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/agosto/03/2014-020..pdf>>. Acessado em: 19/05/2016.

MS (Ministério da Saúde). Manual de normas técnicas e rotinas operacionais do programa nacional de triagem neonatal. **Minist. S.**. Brasília, 2002.

MS (Ministério da Saúde). Plano Nacional de Saúde – PNS 2012-2015. **Minist. da Saúde. Secretaria-Executiva**. 2011.

NEVES, D.P.; FILIPPIS, T. Parasitologia básica. 2ª ed. Rio de Janeiro: **Ath.**, p. 224, 2010.

NISIDA, I.V.V.; AMATO NETO, V.; BRAZ, L.M.A.; DUARTE, M.I.S.; UMEZAWA, E.S. A survey of A survey of Congenital Chagas' disease, carried out at three Health Institutions in São Paulo City, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. SP.**, v. 41, p. 305-311, 1999.

NUNES, M.C.; DONES, W.; MORILLO, C.A.; ENCINA, J.J.; RIBEIRO, A.L. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 62, p. 767-776, 2013.

OLIVEIRA, F.C.; CHAPADEIRO, E.; ALONSO, M.T.; LOPES, E.R.; PEREIRA, F.E. Chagas disease and pregnancy. I. Incidence of trypanosomiasis and spontaneous abortion in pregnant women with chronic Chagas disease. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 8, p. 184–185, 1966.

OMS (Organização Mundial da Saúde). 2010. Trabalhando para superar o impacto global de doenças tropicais negligenciadas: Primeiro relatório da OMS sobre doenças tropicais negligenciadas. **OMS**. p. 188. 2010. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44440/3/9789248564093_por.pdf>. Acesso em: 15/07/2015.

OMS a (Organização Mundial da Saúde). Doença de Chagas (triplanossomíase americana) - Ficha informativa. **OMS**. n. 340, 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>>. Acesso em 10/08/2015.

OPS (Organização Panamericana da Saúde). Doença de Chagas: guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos. **Série Manuais Técnicos**. Rio de Janeiro: PANAFTOSA-VP/OPA/OMS. n. 12, 2009.

OTANI, M.M.; VINELLI, E.; KIRCHHOFF, L.V.; DEL POZO, A.; VERCAUTEREN, G.; SABINO, E.C. WHO. Comparative evolution of serologi assays for chagas disease. **Transf.**, v. 49, n. 6, p. 1076-82, 2009.

PASSOS, L.A.C.; GUARALDO, A.M.A.; ALVES, D.P. Análise da interferência da polpa de açaí na transmissão oral de *Trypanosoma cruzi*, contribuindo para o surgimento de surtos de Doença de Chagas Aguda (DCA) na região Norte do Brasil. **Minist. da Saúde**, 2010.

PEREIRA, MG. Epidemiologia: Teoria e Prática. Rio de Janeiro, **G. Ko**. 1995.

PEREIRA, L.S.; FREITAS, E.C.; FIDALGO, A. S. O. B. V.; ANDRADE, M. C.; CÂNDIDO, D.S.; SILVA, J. D.; QUEIROZ, J. A. N. Clinical and epidemiological profile of elderly patients with chagas disease followed between 2005-2013 by

pharmaceutical care service in ceará state, northeastern brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. SP.**, v. 57, n. 2, p. 145–152, 2015.

PEREZ, C.J.; LYMBERY, A.J.; THOMPSON, R.C.A. Reactivation of Chagas Disease: Implications for Global Health. **Tren. In Parasit.**, vol. 31, n. 11, p. 595-603, 2015.

PINAZO, M.J.; ESPINOSA, G.; CORTES-LLETGET, C.; POSADA, E.J.; ALDASORO, E.; OLIVEIRA, I.; MUNOZ, J.; GALLEN, M.; GASCON, J. Immunosuppression and Chagas disease: a management challenge. **P. Negl. Trop. Dis.**, v.7, (1, article e1965), 2013.

PINTO, S.F. Condições de nascimento de filhos de puérperas infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* diagnosticadas a partir de trigem neonatal em Minas Gerais. Minas Gerais [Dissertação de Mestrado em saúde da criança e do adolescente]. UFMG, 2009.

PORTAL DA SAÚDE a. Situação epidemiológica. **Ministério da Saúde**. 2014. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/761-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/rubeola/11443-situacao-epidemiologica-dados>>. Acessado em: 12/06/2016.

PORTAL DA SAÚDE b. Situação epidemiológica. **Portal da saúde**. 2014. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/646-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/doenca-de-chagas/l2-doenca-de-chagas/11116-situacao-epidemiologica-chagas>>. Acessado em: 20/05/2016.

PORTAL DA SAÚDE. Tabela de casos confirmados de Rubéola. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1997 a 2015. **Ministério da Saúde**. 2015. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/27/Casos-conf-de-Rub-ola-1997-2015.pdf>>. Acessado em: 17/06/2016.

PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas' disease. **Lancet. Infect. Dis.**, v. 1, p. 92-100, 2001.

RASSI, A.; AMATO NETO, V.; RASSI, G. G.; AMATO, V. S.; RASSI, J. A.; LUQUETTI, A.O. Busca retrospectiva da transmissão materna da infecção chagásica em pacientes na fase crônica. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 37, n. 6, p. 485-489, 2004.

RASSI, JR. A.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J.A. Chagas' heart disease: pathophysiologic mechanisms, prognostic factors and risk stratification. **Mem. Inst. Osw. C.**, v. 104, n. 1, p. 152-158, 2009.

REMYNTO, J.S.; MCLEOD, R.; THULLIEZ, P.; DESMONT, G. Toxoplasmosis. Chapter 31. In: JS Remington and J Klein, eds. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. **WB Saund.**, v. 947-1092, 2006.

RENDELL, V.R.; GILMAN, R.H.; VALENCIA, GALDOS-CARDENAS, E.G.; VERASTEGUI, M.; SANCHEZ, L.; ACOSTA, J.; SANCHEZ, G.; FERRUFINO, L.; LAFUENTE, C.; ABASTOFLOR, C.M.D.E.L.; COLANZ, R. I.; BERN, C. *Trypanosoma*

cruzi-infected pregnant women without vector exposure have higher parasitemia levels: implications for congenital transmission risk. **PL.On.**, v. 10, p. e0119527, 2015.

REY, L. Parasitologia: Parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. 4ª ed. Rio de Janeiro: **G. Ko.**, p. 883, 2013.

REZENDE, J.M.; LUQUETTI, A.O. Chagas disease and the nervous system. Chagasic megavisceras. **PAHO.**, p. 149–171, 1994.

ROBERTS, A.; HEDMAN, K.; LUYASU, V. Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 20, p. 467-474, 2001.

RODRIGUEZ, P.; TRUYENS, C.; ALONSO-VEGA, C.; FLORES, A.; CORDOVA, M.; SUAREZ, E.; TORRICO, F.; CARLIER, Y. Serum levels for IgM and IgA antibodies to anti-*Trypanosoma cruzi* in samples of blood from newborns from mothers with positive serology for Chagas disease. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 3, n. 2, p. 62-4, 2005.

SARTORI, A.M.; IBRAHIM, K.Y.; NUNES WESTPHALEN, E.V.; BRAZ, L.M.; OLIVEIRA, O.C.; GAKIYA, E.; LOPES, M.H.; SHIKANAI-YASUDA, M.A. Manifestations of Chagas disease (American trypanosomiasis) in patients with HIV/AIDS. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 10, n. 1, p. 31-50, 2007.

SCAPELLATO, P.G.; BOTTARO, E.G.; RODRÍGUEZ-BRIESCHKE, M. T. Mother-child transmission of Chagas disease: could coinfection with human immunodeficiency virus increase the risk?. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.42, n. 2, p. 107-109, 2009.

SCHENONE, H.; CONTRERAS, M.C.; BORGONO, J.M.; ROJAS, A.; VILLARROEL, F. Congenital Chagas' disease in Chile. Longitudinal study of the reproductivity of women with or without Chagas' disease and of some parasitological and clinical parameters of them and their corresponding children. **Bol. Chil. Parasitol.**, v. 40, p. 24–29, 1985.

SCHOFIELD, C. J.; JANNIN, J.; SALVATELLA, R. The future of Chagas disease control. **T. Parasit.**, v. 22, n. 12, p. 583 – 588, 2006.

SICURI, E.; MUNOZ, J.; PINAZO, M.J. Economic evaluation of Chagas disease screening of pregnant Latin American women and of their infants in a non-endemic area. **Acta. Tropica.**, v. 118, p. 110–117, 2011.

SILBER, A.M.; TONELLI, R.R.; LOPES, C.G.; CUNHA-E-SILVA, N.; TORRECILHAS, A.C.; SCHUMACHER, R.I. et al. Glucose uptake in the mammalian stages of *Trypanosoma cruzi*. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 168, n. 1, p. 102-8, 2009.

SILVEIRA, A. C. Os novos desafios e perspectivas futuras do controle. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Uberaba , v. 44, supl. 2, p. 122-124, 2011 .

SIMISTER, N.E. Placental transport of immunoglobulin G. **Vac.**, v. 21, p. 3.365-3.369, 2003.

SIRIANO, L.R. Influência da gestação na parasitemia por hemocultura em gestantes infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* na fase crônica. Goiás [Dissertação de Mestrado em Medicina Tropical e Saúde Pública]. UFG, 2007.

SIRIANO, L.R.; LUQUETTI, A. O.; AVELAR, B. J.; MARRA, L.N.; CASTRO, M.A. Chagas Disease: Increased Parasitemia during Pregnancy Detected by Hemoculture. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 84, n. 4, p. 569-574, 2011.

SOSA-ESTANI, S.; CURA, E.; VELÁZQUEZ, E.; YAMPOTIS, C.; SEGURA, E.L. Etiological treatment of young women infected with *Trypanosoma cruzi* and prevention of congenital transmission. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 42, p. 484-487, 2009.

SOSA-ESTANI, S.; SEGURA, E. L. Integrated control of Chagas disease for its elimination as public health problem - A Review. **Mem. Inst. Osw. C.**, v. 110, n. 3, p. 289-298, 2015.

SOUZA, E.M.; ARAUJO-JORGE, T.C.; BAILLY, C.; LANSIAUX, A.; BATISTA, M.M.; OLIVEIRA, GM. et al. Host and parasite apoptosis following *Trypanosoma cruzi* infection in vitro and in vivo models. **C. Tis. Res.** v. 314, n. 2, p. 223-35, 2003.

SOUZA, W. Protozoologia médica. Rio de Janeiro: **Rubio.**, p. 416, 2013.

STREIGER, M.; FABBRO, D.; DEL BARCO, M.; BELTRAMINO, R.; BOVERO, N. Chagas congénito en la Ciudad de Santa Fe. Diagnóstico y tratamiento. **Med.** Buenos Aires, v. 55, p. 125–33, 1995.

SUVISA (Superintendência de Vigilância em Saúde). Recomendações para utilização da formulação pediátrica de Benznidazol (12,5mg) para tratamento da doença de Chagas. **SUVISA.** 2016. Disponível em: <http://www.suvisa.ba.gov.br/sites/default/files/doenca_transmissao_vetorial/arquivo/2014/09/18/Benzonidazol%20Pedi%C3%A1trico.pdf>. Acessado em: 18/06/2016.

TERUEL, R.; NOGUEIRA, J.L. Fetal losses in a high prevalence area of chronic Chagas' disease. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 12, p. 239–244, 1970.

TORRICO, F.; ALONSO-VEJA, C.; SUAREZ, E.; RODRIGUEZ, P.; TORRICO, M.C.; DRAMAIX, M.; TRUYENS, C.; CARLIER, Y. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 70, n. 2, p. 201-9, 2004.

TORRICO, F.; VEGA, C.A.; SUAREZ, E.; TELLEZ, T.; BRUTUS, L.; RODRIGUEZ, P.; TORRICO, M.C.; SCHNEIDER, D.; TRUYENS, C.; CARLIER, Y. Are maternal re-infections with *Trypanosoma cruzi* associated with higher morbidity and mortality of congenital Chagas disease?. **Trop. Med. Int. Heal.**, v. 2, p. 628–635, 2006.

VINHAES, M.C.; DIAS, J.C. Chagas disease in Brazil. **Cad. S. Públ.**; v. 16, n. 2, p. 7-12, 2000.

VIRREIRA, M.; TORRICO, F.; TRUYENS, C.; ALONSO-VEJA, C.; SOLANO, M.; CARLIER, Y.; SYOBODA, M. Comparison of PCR methods for the diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 2, p. 65-7, 2005.

VOLTA, B. J.; BUSTOS, P. L.; CARDONI, R. L.; RISSIO, A. M.; LAUCELLA, S. A.; BUA, J. Serum Cytokines as Biomarkers of Early *Trypanosoma cruzi* infection by Congenital Exposure. **J. Immunol.**, v. 196, n. 4596-4602, 2016.

WHO a (World Health Organization). Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases. WHO. 2013. Disponível em: <http://www.who.int/iris/bitstream/10665/77950/1/9789241564540_eng.pdf> Acessado em: 17/05/2016.

WHO a (World Health Organization). Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates *Wkly. Epidemiol.*, v. 90, p. 33-44, 2015.

WHO (World Health Organization). Chagas disease (American Trypanosomiasis). **PAHO/WHO**. 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>. Acessado em: 23/06/2016.

WHO (World Health Organization). Chagas disease: control and elimination. **WHO**. 2008.

WHO b (World Health Organization). Sustaining the drive to overcome the global effect of neglected tropical diseases. **Second WHO report on neglected tropical diseases**. 2013. Disponível em: <[dropbox.com/sh/qct9ln1cirqgnn1/FErxDyk0hs?n=78824233](https://www.dropbox.com/sh/qct9ln1cirqgnn1/FErxDyk0hs?n=78824233)>. Acesso em: 09/08/2015.

WHO (World Health Organization). On behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Reporte del grupo de trabajo científico sobre La enfermedad de Chagas. **WHO**. Geneva, 2007.

WHO (World Health Organization). Control of Chagas disease. Aetiological treatment. **Tech. Rep. Ser.**, v. 905, p. 1-109, 2002.

WHO b (World Health Organization). Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire, **Org. mond. Sant.**, v. 90, n. 16, p. 33 - 44, 2015.

WHO (World Health Organization). Enfermedad de Chagas (Trypanosomiasis Americana). **PAHO/WHO**. 2012. Disponível em: <http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=30591&Itemid=3921&lang=es>. Acessado em: 01/07/2015.

ZINGALES, B.; ANDRADE, S.G.; BRIONES, M.R.S.; CAMPBELL, D.A.; CHIARI, E.; FERNANDES, O. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. **Mem. Inst. O. Cruz**, v. 104, p. 1051–1054, 2009.

ZINGALES, B.; MILES, M.; CAMPBELL, D.; TIBAYRENC, M.; MACEDO, A.; TEIXEIRA, M. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infect. Genet. Evol.**, v. 12, n. 2, p. 240–53, 2012.

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética, TCLE

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Triagem sorológica em recém-nascidos para Toxoplasmose e Tripanossomíase Americana (Doença de Chagas) através da inclusão destes testes a ser implantada pelo SUS no teste do pezinho visando o diagnóstico precoce da infecção congênita

Pesquisador: Ana Maria de Castro

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 37353714.0.0000.5078

Instituição Proponente: Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE GOIAS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 943.441

Data da Relatoria: 11/02/2015

Apresentação do Projeto:

- Projeto de Pesquisa intitulado: Triagem sorológica em recém-nascidos para Toxoplasmose e Tripanossomíase Americana (Doença de Chagas) através da inclusão destes testes a ser implantada pelo SUS no teste do pezinho visando o diagnóstico precoce da infecção congênita.

- O projeto será financiado pela FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA fapeg@fapeg.go.gov.br DO ESTADO DE GOIAS - valor de R\$ 79.400,00

-Vários trabalhos na literatura demonstraram a necessidade de estudos mais aprofundados fazendo o seguimento das mães com diagnóstico positivo para Toxoplasmose e doença de Chagas, e principalmente de seus recém-nascidos, como se avaliar a eficácia terapêutica como medida profilática para evitar a transmissão congênita da infecção grave. Mas mais importante ainda, é a detecção precoce de crianças congenitamente infectadas, que não foram identificadas durante a gravidez e por isso a inclusão da análise dos anticorpos específicos de imunoglobulinas das classes - IgG e IgM no teste do pezinho poderia auxiliar a minimizar a falha observada com o Programa de Controle da Toxoplasmose vigente, no qual não se faz a vigilância da soroconversão. Como ainda não há uma forma de prevenir a transmissão vertical da doença de Chagas, faz-se necessário o diagnóstico precoce nos nascidos de mães sabidamente

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica

Bairro: St. Leste Universitario **CEP:** 74.605-020

UF: GO **Município:** GOIANIA

Telefone: (62)3269-8338 **Fax:** (62)3269-8426 **E-mail:** cepcufg@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



Continuação do Parecer: 943.441

infectadas pelo T. cruzi o que inclui o seu tratamento o quanto mais cedo possível. O diagnóstico influenciaria na eficácia da

terapia, a qual está diretamente relacionada ao tempo da infecção, sendo efetivo nas fases iniciais e muito pouco benéfico nas formas crônicas avançadas.

Pretende-se detectar precocemente a infecção pelos protozoários nos recém-nascidos visando à intervenção terapêutica, conseqüentemente diminuir a incidência de formas graves da toxoplasmose congênita. Além disso, poderia diagnosticar também de forma precoce, casos de infecção pelo T. cruzi, com triagem das crianças soropositivas cujas mães não foram diagnosticadas durante o controle pré-natal, através da ampliação do programa já em execução (triagem da gestante), com a triagem neonatal precoce (teste do pezinho). A implementação da sorologia para estes parasitos, poderia melhorar muito o prognóstico dos nascidos infectados que por falta de um diagnóstico precoce, evoluem de forma grave.

- O estudo será realizado durante o período de 24 meses nas duas maternidades públicas, Dona Iris (para partos de baixo risco) e no HC (para partos de alto risco). Os RN terão o acréscimo de um segundo papel filtro em sua coleta sanguínea do teste do Pezinho, para ampliar a pesquisa da triagem neonatal, para doença de Chagas e toxoplasmose, seguindo a identificação e a especificações padronizadas pelo Ministério da Saúde. Para toxoplasmose, os casos que se mostrarem suspeitos (altos títulos de IgG e/ou da IgM positivo), serão chamados e terão o sangue periférico coletado, e sendo este avaliado por vários métodos diagnósticos sorológico e moleculares. No caso da doença de Chagas, serão avaliados os RN das mulheres que foram identificadas como portadoras de infecção chagásica, será também coletado sangue da mãe e do RN, para comparação dos títulos de anticorpos. Serão utilizadas várias técnicas laboratoriais para essa identificação dos anticorpos anti-T. cruzi, em sangue periférico dos RN: IFI e Elisa. Além disso, será realizada a identificação do T. cruzi através de PCR.

- Sob a coordenação da Profª. Drª. Ana Maria de Castro

- Não haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)

- O número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa: 2.000

- Não propõe dispensa do TCLE.

- Não haverá retenção de amostras para armazenamento em banco.

- Critério de Inclusão: Colher amostras de todos os Recém-nascidos que as mães concordarem na participação do projeto, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido. O material biológico será coletado em duas maternidades públicas de referencia (Maternidade do Hospital das

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica

Bairro: St. Leste Universitario

CEP: 74.605-020

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3269-8338

Fax: (62)3269-8426

E-mail: cephcfg@yahoo.com.br

Continuação do Parecer: 943.441

Clinicas e Maternidade Dona Iris), em Goiânia, Goiás.

- Critério de Exclusão: A não permissão da mãe para participação no projeto.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Implementar a triagem sorológica para Toxoplasmose e Tripanossomíase americana (Doença de Chagas) ao teste do pezinho, visando a identificação através do diagnóstico precoce das duas infecções congênitas nos recém nascidos (na primeira semana de vida) e aos seis meses, o material biológico será coletado em duas maternidades públicas de referencia (Maternidade do Hospital das Clinicas e Maternidade Dona Iris), em Goiânia, Goiás.

- Objetivo Secundário:

-Realizar triagem sorológica para toxoplasmose e doença de Chagas (IgG e IgM) em sangue coletado em polpa digital dos recém-nascidos que forem realizar o Teste do Pezinho, utilizando papel de filtro.-Realizar testes sorológicos confirmatórios e complementares: avidéz da IgG, IgA, e PCR na confirmação dos recém nascidos (RN) com indicação de infecção congênita, utilizando sangue periférico dos RN. -Avaliar e comparar a sensibilidade da sorologia em papel de filtro com a sorologia realizada com sangue periférico, na detecção dos recém-nascidos com infecção congênita. - Avaliar os níveis de anticorpos nos recém-nascidos, após seis (6) e nove (9) meses, comparando aos resultados obtidos na primeira semana de vida.- Quantificar os anticorpos específicos das classes IgG e IgM contra o T. cruzi na mãe e no filho e comparálos, avaliando este procedimento na indicação da infecção ativa. – Determinar o ponto de corte acima do qual a sorologia no RN maior do que a materna seria indicativo de infecção congênita (IgG específica) na doença de Chagas e na toxoplasmose.- Dinamizar o diagnostico precoce da toxoplasmose e doença de Chagas congênita no sangue de recém nascidos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A pesquisadora refere-se que:

Não haverá riscos, pois a coleta do papel filtro já está padronizada pelo Ministério de Saúde, somente será acrescentado mais um segundo papel de filtro, direcionado para pesquisa proposta, sendo realizada durante o procedimento normal do teste do pezinho.

- Benefícios:

A implementação da triagem sorologica para estes parasitos, poderia melhorar muito o prognóstico dos nascidos infectados que por falta de um diagnóstico precoce, evoluem para forma grave da doença.

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitario **CEP:** 74.605-020
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 **Fax:** (62)3269-8426 **E-mail:** cephcfg@yahoo.com.br

Continuação do Parecer: 943.441

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é bastante relevante, tendo em vista que:

- A detecção precoce de crianças congenitamente infectadas, que não foram identificadas durante a gravidez e por isso a inclusão da análise dos anticorpos específicos de imunoglobulinas das classes - IgG e IgM no teste do pezinho poderia auxiliar a minimizar a falha observada com o Programa de Controle da Toxoplasmose vigente, no qual não se faz a vigilância da soroconversão.

Como ainda não há uma forma de prevenir a transmissão vertical da doença de Chagas, faz-se necessário o diagnóstico precoce nos nascidos de mães sabidamente infectadas pelo T. cruzi o que inclui o seu tratamento o quanto mais cedo possível.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- A pesquisadora declara que os prováveis riscos podem ocorrer pela compressão inadequada do local da punção venosa após a retirada da agulha pela mãe, mas esse risco se deve a própria coleta. E que não haverá nenhum tipo de pagamento ou gratificação pela sua participação.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisadora atendeu as solicitações de pendências. Declaro aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, a Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas/UFG - CEP/HC/UFG, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Após início, o pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEP/HC/UFG, via Plataforma Brasil, relatórios trimestrais/semestrais do andamento da pesquisa, encerramento, conclusões e publicações. O CEP/HC/UFG pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da Resolução 466/12 e suas complementares.

Situação: Protocolo aprovado.

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica

Bairro: St. Leste Universitário

CEP: 74.605-020

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3269-8338

Fax: (62)3269-8426

E-mail: cephcufig@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



Continuação do Parecer: 943.441

GOIANIA, 02 de Fevereiro de 2015

Assinado por:
JOSE MARIO COELHO MORAES
(Coordenador)

Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada para participar, como voluntária, em uma pesquisa.

Nossos nomes são **Hânstter Hállison Alves Rezende, Heloisa Ribeiro Storchilo, Juliana Boaventura Avelar, Ana Flávia Eugênio Lourenço, Taynara Cristina Gomes**, somos alunos de pós-graduação e estamos sob orientação da Prof^a. **Dr^a. Ana Maria de Castro**, de desenvolver esta pesquisa, sendo a nossa área de atuação a parasitologia. Após ler com atenção este documento e ser esclarecida sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com, os pesquisadores responsáveis e a **Profa. Dra. Ana Maria de Castro** nos telefones: (62) 32096364. Em caso de dúvidas sobre os seus direitos como participantes nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, da Universidade Federal de Goiás, 1^a Avenida, s/n - Setor Leste Universitário - 74.605-020 - Goiânia - Goiás no telefone (62) 3269.8497.

INFORMAÇÕES IMPORTANTES SOBRE A PESQUISA

O título da pesquisa é “Triagem sorológica em recém-nascidos para Toxoplasmose e Tripanossomíase Americana (Doença de Chagas) através da inclusão destes testes a ser implantada pelo SUS no teste do pezinho visando o diagnóstico precoce da infecção congênita”. Este trabalho será desenvolvido por uma equipe técnica, a qual pertencemos, sob a coordenação da Prof^a. Dr^a. Ana Maria de Castro; o material biológico (sangue) será coletado por uma equipe de técnica, no momento da coleta do teste do pezinho, sendo coletada mais uma gota de sangue em outro papel filtro para a realização do exame. Dessa forma, seu filho não será submetido à outra coleta para a realização desta pesquisa. Os papéis filtros serão levados para o Laboratório de Estudos da Relação Parasito-Hospedeiro no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, onde serão armazenados e realizados os testes propostos no projeto. Caso seja necessário, o participante será convidado a nova coleta de sangue, desta vez, sangue periférico da mãe e de seu recém-nascido. Para confirmação dos resultados obtidos pelo papel de filtro.

Esta pesquisa tem o objetivo: Implementar a triagem sorológica para Toxoplasmose e Tripanossomíase americana (Doença de Chagas) ao teste do pezinho, visando a identificação através do diagnóstico precoce das duas infecções congênicas nos recém nascidos (na primeira semana de vida) e aos seis meses caso haja indicação, em duas maternidades públicas de referência (Maternidade do Hospital das Clínicas e Maternidade Dona Iris), em Goiânia, Goiás.

Os prováveis riscos: Podem ocorrer pela compressão inadequada do local da coleta de sangue após a retirada da agulha, mas esse risco se deve a própria

coleta. Você receberá uma assistência integral e gratuita pela equipe do projeto até o fim da coleta, após sua confirmação que está tudo bem, que não sente nenhum desconforto ou tonturas por conta da coleta, você irá assinar este termo. A opção de participação é totalmente voluntária, caso não queira, não sofrerá nenhuma restrição aos exames que foram solicitados.

Ressarcimento: Não haverá nenhum tipo de pagamento ou gratificação financeira pela sua participação. Pois você não terá nenhum gasto financeiro com a pesquisa. Após realização dos exames entraremos em contato com você para entregar o seu resultado, totalmente gratuito. Caso sentir se lesada, poderá recorrer à justiça comum ou particular, estando à equipe do projeto passiva da decisão judicial.

Sua participação será importante, pois poderá contribuir para o conhecimento da influência dos parasitos *Trypanosoma cruzi* e do *Toxoplasma gondii* no desenvolvimento da doença de Chagas e Toxoplasmose respectivamente, assim como possibilitar ao clínico uma melhor avaliação clínica minimizando assim, possíveis conseqüências em seus filhos.

Salientamos que o material biológico coletado será armazenado no laboratório responsável pela pesquisa e poderá ser usado para pesquisas/analises posteriores, sendo sempre respeitado todos os itens deste TCLE.

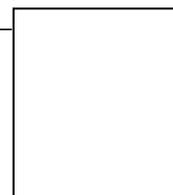
**CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO
DA PESSOA NESTA PESQUISA**

Eu, _____,
RG _____ CPF _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo **“Triagem sorológica em recém-nascidos para Toxoplasmose e Tripanossomíase America (Doença de Chagas) através da inclusão destes testes a ser implantada pelo SUS no teste do pezinho visando o diagnóstico precoce da infecção congênita”**, como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelos Biomédicos sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento. Serão garantidos o sigilo e privacidade de meus dados pessoais.

Goiânia, / / 20.....

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável:

Assinatura Dactiloscópica:



Nome e Assinatura do Pesquisador Responsável:

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

Nome: _____

Observações complementares

Os responsáveis por deste projeto se comprometem a não divulgação e/ou identificação de dados pessoais dos indivíduos participantes.

Anexo 3 – Questionário de pacientes

QUESTIONÁRIO

Nome do entrevistador: _____

Data: ____/____/____

NOME DA MÃE: _____

DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____

ESTADO CIVIL: () 1. casada () 2. solteira () 3. amasiada () 4. divorciada

RUA: _____ n° _____

BAIRRO: _____

CIDADE: _____

TELEFONE: (__) (__) (__) (__) (__) (__) - (__) (__) (__) (__)

1.0 RESIDÊNCIA: () 1. Zona urbana () 2. Zona rural

1.1 Onde você nasceu?

1.2 Mora em Goiânia (1) sim (2) não

Onde e há quanto tempo?

1.3 Você morou em outra cidade antes? Onde?

2.0 GRAU DE INSTRUÇÃO:

() 1. Fundamental completo (1ª a 8ª série) () 2. Fundamental incompleto

() 3. Médio completo (1º ao 3º colegial) () 4. Médio incompleto

() 5. Superior completo () 6. Superior incompleto

() Sem grau de instrução

3.0 QUAL O NUMERO DE PESSOAS NA CASA _____

4.0 TRABALHA FORA? () 1. sim () 2. não

4.1 Qual a atividade? _____

5.0 Renda Familiar

Salário Mínimo: () 1-2 () 3-4 () 5-6 () ≥7

6.0 Qual a sua raça: branca, negra, parda, amarela, indígena, outras?

() branca () negra () parda () amarela () indígena

() outras: _____

7.0 Você possui a Doença de Chagas? () sim () não () não sabe

7.1 Se sim, você se lembra como adquiriu a doença (via de transmissão)? _____

7.2 Como e quando soube da infecção?

8.0 Já fez transfusão sanguínea? () sim () não

8.1 Se sim, quanto tempo e qual a causa? _____

9.0 Doação/ recebeu de órgão? () sim () não.

Qual _____

9.0.1 - Você conhece o inseto "Barbeiro" () sim () não

Onde você viu este inseto? _____

10.0 Você fez consulta do pré-natal em todas as gestações? () sim () não

11.0 Já teve alguma doença antes da gestação?

() sim () não

Qual? _____

12.0 Houve complicações durante a gravidez? () sim () não

12.1 Se sim, quais foram as complicações e de qual gestação? _____

13.0 Quantas vezes ficou grávida?

() 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () ≥6

14.0 Qual o número de filhos? _____

15.0 Quantos abortos já teve?

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () ≥5

16.0 Já fez exames sorológicos nas gestações anteriores? (Pré-natal)

() sim () não

16.1 Se sim, você lembra do resultado dos exames laboratoriais que fez? (Qual o resultado)

DADOS DO RECÉM-NASCIDOS:

DN: / /

Maternidade que nasceu:

Peso: _____ Tamanho: _____

Nasceu prematuro? () sim () não

Quantas semanas? _____

Após o nascimento apresentou alguma anormalidade ou complicação? Se sim, quais? _____

Fez transfusão sanguínea? Se sim qual motivo?

Obs: _____
